

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA II



TESIS DOCTORAL

Mecanismos embriológicos en el desarrollo de las hendiduras labial y palatina en humanos

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Sergio Trapote Mateo

Directores

José Vicente Sanz Casado
José Francisco Rodríguez Vázquez
Juan López-Quiles Martínez

Madrid, 2014

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA**

Departamento de Anatomía y Embriología Humana II



**MECANISMOS EMBRIOLÓGICOS EN EL DESARROLLO
DE LAS HENDIDURAS LABIAL Y PALATINA EN
HUMANOS**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA
POR

SERGIO TRAPOTE MATEO

Bajo la dirección de los profesores:

José Vicente Sanz Casado.
José Francisco Rodríguez Vázquez.
Juan López-Quiles Martínez.

Madrid, 2014



DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y
EMBRIOLOGÍA HUMANA II
FACULTAD DE MEDICINA

Prof. José R. Mérida Velasco
Catedrático de Anatomía y Embriología Humana
Director del Departamento de Anatomía y
Embriología Humana II

A la vista de la información existente sobre el trabajo realizado por **D. SERGIO TRAPOTE MATEO**, titulado: *"Mecanismos embriológicos del desarrollo de las hendiduras labial y palatina en humanos"*, la Comisión responsable del Doctorado en el Departamento de Anatomía y Embriología Humana II considera que se trata de un trabajo de investigación original de su autor, que se ajusta a las **NORMAS DE CALIDAD APROBADAS POR ESTE DEPARTAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE LAS TESIS DOCTORALES** (cuya copia se adjunta) y cumple los requisitos metodológicos científicos necesarios para su admisión al trámite de lectura como Tesis Doctoral.

Lo que firmo en Madrid, a once de marzo de dos mil catorce.


Fdo: Prof. José Ramón Mérida Velasco
Director del Departamento



Ciudad Universitaria, s/n. 28040 Madrid (España). Tlf.: + 34 91 3941353 Fax: + 34 91 3947187
e-mail: mvlopera@med.ucm.es



DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y
EMBRIOLOGÍA HUMANA II
FACULTAD DE MEDICINA

Prof. José R. Mérida Velasco
Catedrático de Anatomía y Embriología Humana
Director del Departamento de Anatomía y
Embriología Humana II

NORMAS DEL DEPARTAMENTO DE ANATOMIA Y EMBRIOLOGIA HUMANA II DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UCM PARA GARANTIZAR LA CALIDAD DE LAS TESIS DOCTORALES ANTES DE SU PRESENTACIÓN (Aprobadas en Consejo de Departamento de 16 de enero de 2014)

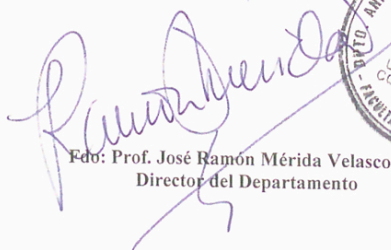
Conforme al acuerdo del Consejo de Gobierno de la Universidad Complutense de fecha 6 de noviembre de 2012 (BOUC de 21 de diciembre de 2012), por el que se aprueba la Normativa de desarrollo del Real Decreto 99/2011 de 28 de enero (BOE 10/02/2011) y tal como fue aprobado en el Consejo del Departamento de Anatomía y Embriología Humana II celebrado el 16 de enero de 2014, la Comisión del Doctorado del Departamento someterá todas las tesis presentadas para su ADMISION AL TRÁMITE de lectura a una valoración por dos expertos.

Los evaluadores examinarán el trabajo presentado y comprobarán que la tesis propuesta es un trabajo de investigación original, emitiendo un informe que considere los siguientes puntos:

1. Que la introducción y la documentación bibliográfica sean los adecuados.
2. Que la hipótesis de trabajo este bien formulada y el trabajo tenga unos objetivos concretos.
3. Que la metodología empleada se ajuste a las normas del método científico observacional o experimental.
4. Que los resultados obtenidos se expresen de forma adecuada.
5. Que exista una interpretación y discusión de los resultados, en relación con el método empleado y con lo publicado por otros autores.
6. Que las conclusiones estén en consonancia con los objetivos y sean científicamente aceptables.

Si ambos expertos consideran que el trabajo es aceptable, la tesis será admitida por el Departamento. Si consideran alguna corrección, se devolverá a su autor para que proceda a efectuarla, bajo tutela de su director o codirectores. En caso de discrepancia entre los evaluadores, la tesis se enviara a un tercer experto, ajeno al Departamento o incluso de otra Universidad, antes de decidir su rechazo o aceptación.

Madrid, 16 de enero de 2014


Edo: Prof. José Ramón Mérida Velasco
Director del Departamento



Ciudad Universitaria, s/n. 28040 Madrid (España). Tlf.: + 34 91 3941353 Fax: + 34 91 3947187
e-mail: mvlopera@med.ucm.es



Universidad Complutense de Madrid.
Departamento de Anatomía y Embriología Humana II.
Facultad de Medicina.

D. José Vicente Sanz Casado, Profesor Titular Numerario
del Departamento de Anatomía y Embriología Humana II de la
Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de
Madrid.

CERTIFICA: Que el trabajo de investigación, base de
Tesis Doctoral titulado **“Mecanismos embriológicos del
desarrollo de las hendiduras labial y palatina en humanos”**,
ha sido realizado por el licenciado **D.Sergio Trapote Mateo**
bajo nuestra dirección, considerando quien suscribe que reúne
todas y cada una de las condiciones exigidas según la
normativa vigente para optar al grado de Doctor.

En Madrid a 24 de febrero de 2014.

Fdo.: Prof. José V. Sanz Casado.

Facultad de Medicina. Plaza de Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid, España.



Universidad Complutense de Madrid.
Departamento de Anatomía y Embriología Humana II.
Facultad de Medicina.

D. José Francisco Rodríguez Vázquez, Catedrático
Numerario del Departamento de Anatomía y Embriología
Humana II de la Facultad de Medicina de la Universidad
Complutense de Madrid.

CERTIFICA: Que el trabajo de investigación, base de
Tesis Doctoral titulado “**Mecanismos embriológicos del
desarrollo de las hendiduras labial y palatina en humanos**”,
ha sido realizado por el licenciado **D.Sergio Trapote Mateo**
bajo nuestra dirección, considerando quien suscribe que reúne
todas y cada una de las condiciones exigidas según la
normativa vigente para optar al grado de Doctor.

En Madrid a 24 de febrero de 2014.

Fdo.: Prof. José Francisco Rodríguez Vázquez.

Facultad de Medicina. Plaza de Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid, España.



Universidad Complutense de Madrid.
Departamento de Estomatología III.
Facultad de Odontología.

D. Juan López-Quiles Martínez, Profesor Contratado Doctor del departamento de Estomatología III de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICA: Que el trabajo de investigación, base de Tesis Doctoral titulado **“Mecanismos embriológicos del desarrollo de las hendiduras labial y palatina en humanos”**, ha sido realizado por el licenciado **D.Sergio Trapote Mateo** bajo nuestra dirección, considerando quien suscribe que reúne todas y cada una de las condiciones exigidas según la normativa vigente para optar al grado de Doctor.

En Madrid a 24 de febrero de 2014.

Fdo.: Prof. Juan López-Quiles Martínez.

Facultad de Odontología. Plaza de Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid, España.

Agradecimientos.

A los directores del presente trabajo de tesis doctoral, Profesor José Francisco Rodríguez Vázquez, Profesor Juan López-Quiles Martínez y muy especialmente al Profesor José Vicente Sanz Casado. Sin su ayuda, aliento, correcciones, estímulo y constante dedicación, este texto no hubiera sido posible. A todo el personal, docente y no docente del departamento de Anatomía y Embriología Humana II de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, dirigido por el Profesor José Ramón Mérida Velasco. El permitirme trabajar con los embriones de este tesoro que constituye la embrioteca Prof. Jiménez Collado ha sido un auténtico privilegio.

A Ana, que me aguantó y atendió con paciencia y una sonrisa cada vez que llamaba a su puerta y a Consuelo, que con todo detalle orienta en el trámite administrativo previo a la lectura de un trabajo como éste.

A mis compañeros del departamento de Estomatología III de la Facultad de Odontología, donde comencé a colaborar en 1998, con mi muy querido y recordado amigo y Profesor José María Sada García-Lomas, él fue el primero que además de enseñarme y despertar mi interés por la cirugía, me animó y me instó a emprender el camino del doctorado que hoy ve la luz.

También agradecimiento a mi familia, empezando por mi padre, quien con su infinita generosidad ha permitido que todos sus hijos hayamos

ido encontrando el camino que cada uno ha necesitado a lo largo de nuestra vida. Siempre ahí, con todo su esfuerzo personal y emocional, haciendo todo tipo de equilibrios en una vida que seguro que aunque lo parezca a ojos de los demás no ha sido y no es fácil, gracias padre, gracias de corazón. A mis hermanos, todos menores que yo, Pedro, con el que compartí infancia, juventud y toda una vida adulta, con momentos muy duros cuando éramos unos niños; Alejandro, que en la distancia inspira y anima; Pablo, el que está demostrando que el cambio es posible, gracias a su trabajo he tenido algo más de tiempo para dar el empujón necesario para acabar este texto; y Gonzalo, quien con su tremenda juventud tiene todo un camino por delante. También a Begoña, que pone cordura y equilibrio con una sonrisa constante.

Gracias a todos mis amigos, gracias a ellos se “*respira*” mejor, y sin amigos la vida se hace un poco más cuesta arriba. Aquí aparece de nuevo Juan, esta vez sin el “*profesor*” delante, el amigo con el que tengo la suerte de compartir profesión, afinidades, alegrías y tristezas, gracias por seguir enseñándome y por animarme a terminar este trabajo.

Dedicatoria

*A Marta, mi mujer, infinito agradecimiento
por haberle robado muchas horas de nuestro tiempo.*

*A nuestros hijos Álvaro, Pablo y Casilda.
No encuentro palabras que puedan describir la alegría
que supone tenerlos cada día a mi lado y ver cómo
crecen siendo la prolongación de mi vida. No dejéis de
sonreír.*

Índice

1. Introducción	6
1.1 Embriología general. Desarrollo del labio superior y del maxilar	8
1.2 Desarrollo de los arcos branquiales	13
1.3 Formación de las placodas nasales	18
1.4 Unión de los procesos nasales externos con los procesos maxilares.....	22
1.5 Unión de los procesos maxilares con los procesos nasales internos	25
1.6 Formación del paladar secundario	29
1.7 Epidemiología y teorías patogénicas de las hendiduras labial y palatina.....	35
1.8 Clasificación de las hendiduras labiales y palatinas	42
2. Objetivos	44
3. Materiales y métodos.....	46
4. Resultados	53
5. Discusión	140
6. Conclusiones	164
7. Bibliografía	168
8. Summary	181

Introducción

Introducción

Las malformaciones del macizo craneofacial son las cuartas en frecuencia de todas las malformaciones congénitas que aparecen en el recién nacido. La fisura o hendidura palatina y/o la hendidura labial, esta última también denominada clásicamente labio leporino, suponen la malformación congénita más frecuente de las del macizo craneofacial. Según la revisión realizada por Bernheim en 2006, la prevalencia de esta malformación llega hasta 1 de cada 700 nacidos vivos, y aunque en ocasiones su diagnóstico se realiza a través de ecografía antes del parto, es más frecuente que se realice en el momento en el que el recién nacido es por primera vez valorado por el neonatólogo o incluso por los propios padres en el momento en el que le es entregado a los mismos (Meritt 2006). Por lo tanto, el interés del estudio de esta malformación estriba no tan solo en la llamativo de la deformidad, que afecta a la estética facial y a las funciones fonatoria, respiratoria y masticatoria, sino también en su alta incidencia, hecho éste que ha llevado a lo largo de la historia a los distintos profesionales de la salud a intensificar los esfuerzos en su conocimiento y la corrección de la misma.

La hendidura puede ser completa o incompleta, uni o bilateral, afectar al labio solo, al paladar solo o a ambos, aparecer aislada o asociada a otras anomalías físicas formando parte entonces de un cuadro sindrómico. Múltiples han sido los autores y asociaciones médicas que las han clasificado, entre otros Veau en 1931 recogida

por Tresserra en 1977, Fogh y Andersen en 1942, Kernahan y Stark en 1958, o la American Cleft Palate Craniofacial Association en 1993.

En la etiología de esta malformación es necesario considerar una causa multifactorial. Si bien existe una base genética, importante aunque no predecible, y puede asociarse a otros síndromes, (Wenli 2009) también hay una serie de factores ambientales que pueden alterar el proceso embriológico del normal desarrollo de labio y paladar dando como resultado la aparición de la fisura o hendidura palatina y/o labial. El momento en el tiempo donde se desarrolla esta malformación se encuentra dentro del periodo embrionario, es decir, el que va de la tercera semana a la octava semana, y más concretamente en el periodo de desarrollo facial que ocupa de la cuarta a la octava semana de vida intrauterina.

1.1 Embriología General. Desarrollo del labio superior y del maxilar.

El esqueleto que compone la cara pertenece al viscerocráneo y en su origen, al igual que sucede con el resto de las estructuras faciales, intervienen una serie de formaciones cuya evolución es compleja, siendo especialmente importantes y decisivas aquellas modificaciones acontecidas durante el periodo embrionario. La mayoría de las malformaciones faciales graves suceden por

alteraciones de los mecanismos embriológicos que tienen lugar en este periodo de tiempo, que se extiende como ya se ha dicho, desde la tercera a la octava semana de vida intrauterina –estadios 10 a 23 de la Carnegie-. Es cuando se produce el inicio de la formación de las principales estructuras tanto internas como externas y cuando se diferencian los tejidos y órganos principales a partir del embrión de tres capas. Según se va avanzando en el tiempo, la forma del embrión se va modificando hasta que en la octava semana se puede reconocer claramente su aspecto humano. Este periodo embrionario, es un proceso de crecimiento, tanto en volumen como de desarrollo complejo de estructura y función. El crecimiento se realiza gracias a la multiplicación mitótica de las células a lo que se une la producción de matriz extracelular, mientras que el desarrollo se obtiene gracias a dos procesos, la morfogénesis y la diferenciación. Se entiende por morfogénesis la consecuencia de una serie de movimientos celulares en masa que provocan interacciones celulares complejas, en una secuencia ordenada durante la formación de tejidos y órganos mientras que la diferenciación constituye la maduración de los procesos fisiológicos responsables de la formación de tejidos y su agrupación en órganos, de tal forma que puedan realizar las diferentes funciones especializadas que les corresponden (Cooke 1988).

Este complejo proceso es dirigido por una serie de mecanismos de control que permiten la sincronización del desarrollo, morfogénesis y crecimiento. Estos mecanismos son

interacciones controladas entre tejidos, migración regulada de colonias celulares, proliferación celular controlada y muerte celular programada (England 1990).

En la tercera semana gracias a importantes cambios en la forma celular, movimientos, reordenación y cambios en las propiedades adhesivas de las células se llega al embrión de tres capas. Este proceso conocido como gastrulación constituye el inicio de la morfogénesis, entendiendo como tal al desarrollo de la forma corporal, y constituye un momento importante de la tercera semana (Moore 2008) ya que es precisamente de las tres hojas o capas germinales de donde se van a formar los primordios de todos los tejidos y órganos, incluida la cara, a lo largo del periodo que va de la cuarta a la octava semana. Este proceso de organogénesis supone que las células de cada capa germinal se dividen, migran, se agregan y diferencian a medida que se van formando los diferentes tipos de tejidos y órganos, estos procesos de desarrollo dependen de la interacción coordinada de factores genéticos y ambientales, además de una importante interacción intertisular durante el desarrollo (Guthrie 1991, Streit 2000).

Los factores que influyen para que se produzca un determinado cambio en el curso del desarrollo se denominan *inducciones*. Un tejido va a influir en la vía de desarrollo de otro mediante una señal entre ambos tejidos actuantes. Tenemos por tanto un tejido inductor de una señal y otro, que responde a esa

señal, capacidad que se denomina *competencia* y la competencia necesita de la activación del tejido que responde por un *factor de competencia*.

Esta señal puede ser en forma de molécula difusible en corta distancia, en forma de interacción paracrina, o por medio de interacciones yuxtacrinas, que no involucran proteínas difusibles generándose la inducción bien por la respuesta a los ligandos de la matriz extracelular secretadas por la células inductoras, bien por transmisión de información por contacto directo entre ambas células. Todos estos mecanismos tienen en común la necesidad de la proximidad muy cercana entre los tejidos que interactúan. La alteración de estas interacciones inductoras, de este “*diálogo entre células*”, tiene consecuencias en forma de alteraciones congénitas (Rohen 2007).

Durante las semanas tercera y cuarta del desarrollo embrionario, que se corresponden con los estadios 6 a 9 de la Carnegie, se producen una serie de sucesos clave: la diferenciación a partir del ectodermo del sistema nervioso y del tejido de la cresta neural, la diferenciación del mesodermo, y el plegamiento del embrión en dos planos a lo largo de los ejes cefalocaudal y lateral.

Las células de la cresta neural toman una importancia muy relevante, ya que poseen una gran capacidad migratoria y de diferenciación dentro del embrión en desarrollo, dando lugar a

múltiples estructuras, entre las cuales se encuentra el cartílago de los arcos branquiales. En el correcto desarrollo facial es esencial la migración adecuada de estas células de la cresta neural.

Davis (1988) afirma que la acción de factores teratogénicos que alteren la capacidad migratoria de las células de la cresta neural podrían producir malformaciones craneofaciales. Johnston (1964) demuestra que la extirpación parcial de la cresta neural en embriones de pollo produce hendiduras de paladar primario.

Gracias al plegamiento embrionario, a nivel del polo cefálico se origina la membrana bucofaríngea mediante la fusión del epitelio endodérmico y ectodérmico en esta región. Esta membrana, que separa intestino anterior de estomodeo o boca primitiva va haciéndose cada vez más delgada y termina por desaparecer. La invaginación del ectodermo subyacente al extremo anterior del tubo nervioso forma una depresión que constituye la invaginación ectodérmica bucal o estomodeo. Esta invaginación ectodérmica es inducida por el endodermo cuando el extremo anterior del tubo digestivo entra en contacto con el ectodermo de la futura boca, separado por la membrana bucofaríngea, hasta que esta se rompe, comunicando entonces intestino anterior, estomodeo y cavidad amniótica.

1.2 Desarrollo de los arcos branquiales.

El desarrollo de la cabeza se caracteriza por la formación de los arcos branquiales o faríngeos que para la mayoría de los autores aparecen en la cuarta y quinta semana de desarrollo intrauterino (Moore 2008, Sadler 2008). Estos arcos branquiales son barras o núcleos de tejido mesenquimático, que se recubren por ectodermo en su superficie externa y por endodermo en la interna, derivados de la proliferación del mesodermo intraembrionario y reforzados por las células de la cresta neural que migran de manera posterior hacia él convirtiéndose en fuente principal de componentes de tejido conjuntivo, que incluyen cartílago, hueso y ligamentos en las regiones bucal y facial (ectomesénquima).

Se disponen como abultamientos en las caras laterales del embrión y se encuentran separados entre sí por las hendiduras branquiales o faríngeas. Por la parte externa, los arcos se separan por estas hendiduras y en la interna por evaginaciones de la faringe denominadas bolsas faríngeas. Estas evaginaciones se producen a lo largo de las paredes del intestino faríngeo - porción mas cefálica del intestino anterior-, y se van introduciendo en el mesénquima circundante pero nunca llegando a formar comunicación abierta con las hendiduras externas. Estas bolsas separan los arcos branquiales internamente.

Cada uno de los arcos branquiales posee un componente cartilaginoso derivado del ectomesénquima (mesénquima derivado de la cresta neural) y otro muscular, el cual conduce su propio nervio y contiene su propio componente arterial. El cartílago del primer arco recibe el nombre de Cartílago de Meckel y el del segundo arco cartílago de Reichert.

Hacia el día 28 –estadio 10 de la Carnegie- ya se distinguen el primer y segundo arcos. El primer arco branquial está formado por una porción dorsal correspondiente al proceso maxilar y una porción ventral correspondiente al proceso mandibular. Es fundamentalmente a partir de estas dos estructuras y por osificación membranosa de donde se forma en gran medida el esqueleto facial, además de tener una importante contribución a la formación de parte del oído medio ya que del cartílago de Meckel se forman los huesos yunque y martillo. Este modo de osificación ocurre en el mesénquima que formó una capa membranosa y se produce por secreción de matriz ósea directamente a partir del tejido conectivo sin ninguna formación intermedia de cartílago.

El mesénquima de los mamelones faciales prolifera intensamente, siendo susceptibles a la acción de agentes teratogénico. Landauer (1954) y Johnston (1966) producen en embriones de pollo hendiduras de paladar primario inyectando ácido bórico en las fases de mayor crecimiento de los procesos

maxilares. Lejour-Jenty (1966 y 1979) producen hendidura labial en ratas administrando el antibiótico hadacidina.

El mesénquima se condensa y se torna muy vascular, algunas células se diferencian en osteoblastos formadoras de hueso, y comienzan a depositar matriz y sustancias intercelulares constituyendo el tejido osteoide. Los osteoblastos se separan entre sí casi por completo; su contacto se conserva por algunos procesos muy pequeños. A continuación se deposita fosfato de calcio en la matriz osteoide y a medida que se organiza el hueso, los osteoblastos quedan atrapados en la matriz transformándose en osteocitos. En un principio el hueso nuevo carece de un patrón organizado pero pronto se organizan espículas óseas que se reúnen en forma de láminas o capas.

La mandíbula se forma en la misma zona que el cartílago de Meckel. De hecho, el desarrollo de la mandíbula comienza por la condensación del mesénquima situado lateral al cartílago de Meckel mediante un proceso de osificación intramembranosa en zona que se extiende desde el futuro orificio mentoniano hasta la zona dorso craneal. Este cartílago se desintegra y va desapareciendo conforme se va formando el tejido óseo. Los remanentes de este cartílago son los que forman los dos huesecillos del oído medio. El cartílago del cóndilo de la articulación temporomandibular se desarrolla inicialmente como un cartílago secundario independiente que se separa del cuerpo mandibular por una considerable hendidura

(William 1993). En la región intermentoniana se produce osificación endocondral acompañado de osificación pericondral del cartílago de Meckel (Rodríguez Vázquez 1997).

El cartílago del segundo arco branquial, cartílago de Reichert ya no participa en el desarrollo de la cara. Entre las estructuras óseas que derivan de él se encuentran el estribo, el ligamento estilo hioideo, el asta menor y la porción superior del cuerpo del hueso hioides y la apófisis estiloides del hueso temporal, razón esta última por la cual hay autores que apuntan al mantenimiento de la angulación en el segmento craneal del cartílago de Reichert como posible explicación a la sintomatología presente en el síndrome de Eagle. (Rodríguez Vazquez 2006).

Hacia el final de la 4ª semana con el plegamiento del embrión y el inicio de la fusión de los pliegues neurales, el corazón ya ha comenzado a latir y ocupa una gran prominencia ventral, el centro de la cara está formado por el estomodeo que se encuentra rodeado por arriba por la placa neural, debajo por el corazón en desarrollo y lateralmente por el primer arco branquial.

En poco tiempo la cara entra en contacto con la prominencia cardiaca.

A los 28 días el primer arco branquial da origen al proceso maxilar. A esta altura de desarrollo nos encontramos con 5

formaciones mesenquimáticas o procesos faciales que determinan los límites del citado estomodeo (Orts Llorca 1969).

Por un lado la porción dorsal del primer arco branquial: son los procesos maxilares situados lateralmente respecto al estomodeo.

Por otro el primer arco branquial ahora denominado proceso mandibular situado en posición caudal respecto al estomodeo.

Finalmente una elevación ligeramente redondeada en rápida expansión y en situación craneal, con respecto al estomodeo, delimita su techo y cubre el cerebro anterior, es la prominencia frontal.

Las prominencias maxilares forman los límites laterales del estomodeo y el par de prominencias mandibulares constituye los límites caudales de la boca primitiva. Los cinco procesos faciales son centros de crecimiento activo en el mesénquima subyacente, que se continúa de un proceso a otro.

El desarrollo facial se completa entre la cuarta y la octava semana. Al final de este periodo la cara tiene un aspecto indudablemente humano. La mandíbula y el labio inferior son las primeras estructuras de la cara que se forman. Durante la cuarta semana se produce la unión de los extremos mediales de las dos prominencias mandibulares.

1.3 Formación de las placodas nasales

El desarrollo de los órganos que rodean la boca va a contribuir de manera decisiva a la formación de la cara en el ser humano. Estos órganos surgen de varios engrosamientos mesenquimales en activo crecimiento y cubiertos por el ectodermo, van a tomar como centro la invaginación del estomodeo (Balinsky 1983).

A los 28 días y a cada lado de la prominencia frontal se originan unos engrosamientos ovales y bilaterales del ectodermo superficial que constituyen las placodas nasales, primordios de la nariz y cavidades nasales.(Moore 1976, Tuchman-Duplessis 1982, Davis 1988, Patten 1976). Para Bakshir (1986) las placodas nasales son inducidas por el prosencéfalo. Kucherowa (1945) y Haggis (1956) sostienen que el telencéfalo es el inductor de las placodas. Spemann (1912) y Raunich (1950) demuestran sin embargo que la extirpación del segmento anterior de la placa neural no impide la formación de la placoda nasal; criterio compartido por Carpenter (1937), willing (1940) y Waddington (1936) para quienes, en embrión de pollo, el telencéfalo no interviene en la formación de las citadas placodas.

Orts Llorca y Murillo Ferrol (1961) consideran que es el mesénquima precordial quien determina el grado de diferenciación de las fosas olfativas.

Tarscer (1968) considera que la malposición de las placodas nasales puede condicionar una anómala distribución del mesénquima siendo este hecho responsable de la aparición de hendidura labial con o sin hendidura palatina.

La rápida proliferación del mesénquima subyacente alrededor de la placoda produce un borde en forma de herradura lo que convierte la placoda en la fosita nasal.

A partir de esta forma de herradura, su brazo medial, recibe el nombre de proceso nasal interno y origina la parte media de la nariz, parte media del labio superior, la porción anterior del maxilar y el paladar primario. Los dos procesos nasales medios unidos al proceso frontal reciben el nombre de proceso frontonasal. El brazo lateral de la herradura, recibe el nombre de proceso nasal externo o lateral y de él se desarrollan las alas de la nariz (Nanci 2012)).

Hamilton y Mossman (1975), Sandler (1986) y Moore (1976) hablan de la formación de unos rebordes externos de crecimiento rápido que rodean a la placoda nasal denominados los procesos nasales externo e interno, donde la placoda nasal

va a formar el suelo de una depresión que constituye la fosita olfatoria (Sadler 2008).

Al principio, estas placodas son convexas, y después se estiran para producir depresiones planas en sus superficies (Hirinchsen 1985).

La mayoría de autores coinciden en que el mesénquima de los bordes de estas placodas prolifera, y origina estas elevaciones en forma de herradura, formando las prominencias nasales medial y lateral. Como resultado de este proceso las placodas nasales ahora se deprimen y originan las denominadas foveas o fositas nasales.

A medida que avanza el desarrollo, estas fositas nasales se hacen mucho más profundas, no sólo a consecuencia del crecimiento de los procesos nasales alrededor de las mismas sino también por el desarrollo de las propias fosas primitivas, que pronto se abren camino hacia la parte superior de la cavidad oral.

El mecanismo de formación de estos engrosamientos va seguido de la formación de una luz en su interior para formar tubos y vesículas, que no siempre se produce por invaginación de las capas epiteliales. Nos referimos aquí a la teoría de la posible invaginación de la placoda descrita por Pourtois (1972),

Trascer (1968) y Hisaki (1969). Muy a menudo la fase inicial es un engrosamiento macizo del epitelio. En estos engrosamientos compactos pueden formarse, secundariamente, una cavidad interna por separación de las células centrales, que puede estar conectada o no con la superficie externa del epitelio. De todas formas es muy notable que el mismo órgano pueda producirse de maneras diferentes en distintos animales: a partir de una invaginación, en algunos, y de un engrosamiento compacto, en cuyo interior se forma después una cavidad en otros (Balinsky 1983).

Hamilton y Mossman (1975) describen cómo el epitelio del fondo de la fosa olfativa o saco nasal origina la membrana buconasal temporal, que desaparece en embriones humanos de 12-14 mm de longitud, instaurándose en su lugar la coana primitiva Orts Lorca y Jiménez Collado (1969), López Pelayo (1982), Esporrín Bosque (1990).

La cara aparece en el periodo que discurre entre los 24 y los 38 días de desarrollo. Además, en este momento, parte del epitelio que cubre los procesos faciales, sobre el borde inferior del proceso maxilar y el borde superior del proceso mandibular, donde se forma el margen lateral del estomodeo, comienza a proliferar y origina un engrosamiento epitelial que se distingue como epitelio odontogénico o formador de dientes. Este engrosamiento, junto con el producido en el lado lateral del

proceso nasal medio, se unen hacia el día 37 para formar una única capa de epitelio engrosado denominada lámina dentaria o banda epitelial primaria (Nanci 2012). Se ha sugerido que el alargamiento de las células de la capa epitelial en dirección perpendicular a la superficie del epitelio es el mecanismo mediante el cual se realiza el engrosamiento de dicha capa (Balinsky 1983).

1.4 Unión de los procesos nasales externos con los procesos maxilares.

En las dos semanas siguientes, la sexta y séptima del periodo embrionario, los procesos maxilares continúan su crecimiento por proliferación del mesénquima en dirección medial y se aproximan tanto a los procesos nasales internos como a los externos, pero permanecen separados mediante surcos distinguibles. Es la proliferación de los procesos maxilares lo que provoca el movimiento hacia el plano medial entre sí de las prominencias nasales internas (Moore 2008, Sadler 2008).

Al crecer medialmente los procesos maxilares, se constituye un muro epitelial por aposición entre los epitelios del mamelón maxilar y nasal interno. Este muro, hacia atrás forma la membrana nasofaríngea López Pelayo (1982). En opinión de Yokoh (1967) la citada membrana desaparece en el horizonte

XVIII de Streeter, que es coincidente con el estadio 18 de la Carnegie.

Tondury (1961) Farbman (1968) y Trascer (1968), en embriones humanos y de rata, consideran que cuando existe contacto epitelial entre los mamelones, aunque mínimo, se produce fusión. Veau (1942) atribuye a la persistencia del cordón la responsabilidad de las hendiduras labial y palatina. Kitamura (1966) afirma que la ruptura de la unión entre los mamelones es la responsable de las hendiduras palatinas. Ross y Johnston (1972) atribuyen al fallo de la consolidación mesenquimal la aparición de hendiduras labiales y/o palatinas.

Estos procesos maxilares crecen hasta tal punto que la porción inferior del proceso frontal situado entre ellos desaparece por completo (Patten 1962). Cada prominencia nasal externa se separa del proceso maxilar mediante una hendidura, el surco nasolacrimal.

La formación de la cara se describe en términos de la formación, crecimiento y fusión de una serie de procesos distintos. Esta terminología, no obstante, puede dar lugar a confusiones. En la mayoría de los casos estos procesos son abultamientos del mesénquima que hacen aparecer surcos entre los mismos, de modo que la fusión real de los procesos implica en realidad la eliminación de un surco. Sólo en

determinados casos, tales como en la unión de los procesos palatinos, existe una fusión real (Nanci 2012).

La eliminación del surco se produce a medida que se rellena gradualmente dicho surco tras la proliferación del mesénquima subyacente. El epitelio superficial es empujado hacia fuera del surco hasta que éste se alisa (Moore 1995).

La unión del proceso maxilar con la prominencia nasal externa se establece a lo largo de la línea descrita por este surco. Ello establece una continuidad entre el lado de la nariz, que es formado por la prominencia nasal lateral o externa, y la región de la mejilla, que se constituye por la prominencia maxilar (Moore 2008).

Este tipo de fusión entre procesos maxilares y nasales externos se realiza mediante la eliminación del surco profundo que inicialmente los separaba.

El epitelio del suelo del surco nasolacrimal forma un centro sólido, en forma de bastón, que se separa de la superficie y más tarde se canaliza, por degeneración celular, para formar el conducto nasolacrimal, ensanchándose en su porción superior para formar el saco lagrimal. Cuando el conducto se separa, los dos procesos maxilares se unen por tejido mesenquimático describiendo para el citado conducto un

recorrido desde el ángulo interno del ojo hasta el meato inferior de la cavidad nasal (Moore 2008).

1.5 Unión de los procesos maxilares con los procesos nasales internos.

Formación del labio superior y segmento intermaxilar.

Los procesos nasales internos crecen hacia la línea media por lo que en estadios ulteriores de desarrollo la hendidura delimitada por los procesos maxilares y los nasales internos se cierra delimitando el labio superior. El labio superior se forma por tanto por la fusión de los dos procesos maxilares y los dos procesos nasales internos (Sadler 1985). Los procesos nasales externos no participan en la formación del labio.

Los procesos maxilares siguen su crecimiento medial y como consecuencia, los procesos nasales internos se fusionan en la superficie y también a nivel más profundo, dando lugar a las estructuras del segmento intermaxilar que agrupa: *Philtrum labial*, componente maxilar superior anterior, donde se desarrollan los incisivos, y el paladar (Orts Linares 1986).

En estudios realizados en ratones se ha visto que en el momento de la formación del paladar primario, se produce un incremento del epitelio nasal y de las células del mesénquima.

Las capas superficiales del epitelio de ambos procesos nasales laterales y mediales disminuye respecto al periodo de desarrollo inicial. Las células epiteliales del área donde se va a producir la fusión muestra una disminución de la síntesis de DNA respecto a las demás áreas donde no se va a producir ninguna fusión. Además, comparativamente se ha observado que esta disminución es menor en el proceso nasal lateral que en el medial. Los resultados del estudio sugieren que en el momento de la fusión la proliferación celular epitelial se convierte en proceso de diferenciación, especialmente en el área presumiblemente donde se va a realizar la fusión (Gui 1993).

Los procesos nasales externos o laterales no participan en la formación del labio superior sino que dará lugar a las alas de la nariz.

La anchura de la boca no viene determinada por la fusión de los procesos maxilares y mandibulares sino que dependen directamente de cambios producidos en la posición de la lengua en el suelo de la boca y por el ensanchamiento del maxilar inferior.

Como se ha dicho, entre la séptima y la décima semana se fusionan los procesos nasales internos, no solo superficialmente sino también a nivel profundo, las

prominencias nasales mediales entre sí y con las prominencias maxilares y nasales laterales.

La fusión de estas prominencias requiere la desintegración de su epitelio superficial de contacto lo que origina una mezcla de las células mesenquimatosas subyacentes.

Esta fusión origina la continuidad del maxilar con el labio superior y la separación de las fóveas nasales del estomodeo.

A medida que se van fusionando los procesos nasales internos se va configurando el segmento intermaxilar, cuyos componentes son:

- Componente labial: forma el surco vertical subnasal en la línea media del labio superior, *philtrum labial*.
- Componente premaxilar del maxilar superior que incorpora los 4 incisivos y su encía correspondiente.
- Componente o primordio palatino: forma el denominado paladar primario triangular o proceso palatino medio. (Moore 1995, Sadler 1986).

Durante la formación del paladar primario, se producen una serie de cambios considerables en la morfología del esqueleto facial. Conforme el proceso frontonasal crece y se

elonga en sentido vertical y se estrecha hasta aproximadamente la mitad, la región nasal anterior sufre cambios significativos. El cerebro y la cara se van separando en sentido vertical y los procesos faciales se van posicionando en sentido cada vez más anterior y frontal respecto al cerebro. El área maxilar incrementa su tamaño de forma extensa, particularmente la región anterior, ya que los procesos maxilares avanzan en crecimiento hacia delante y en sentido lateral respecto a la cavidad nasal, contribuyendo la formación del paladar primario. Los procesos nasales laterales aumentan de tamaño con un patrón de crecimiento predominantemente horizontal. Este patrón de crecimiento vertical general de las estructuras faciales provocan un estrechamiento de las fosas nasales y del proceso frontonasal, así como un avance de los procesos maxilares y una separación relativa del cerebro respecto a la cara (Diewert 1993).

Las partes laterales del labio superior, la mayor parte del maxilar y el paladar secundario se formarán a partir de los procesos maxilares, que en la zona ventral lateral se fusionan con los procesos mandibulares.

Los labios y mejillas primitivos son invadidos por mesénquima proveniente del segundo par de arcos branquiales que se diferencian entre otras estructuras para formar los músculos faciales.

1.6 Formación del paladar secundario.

La formación del paladar secundario se produce en la sexta semana según Moore (1995), entre la séptima y octava semana según Nanci (2012) y en la octava semana según Esporrín Bosque (1990), cuando el maxilar ya está constituido, a partir de dos láminas derivadas los procesos maxilares. Estas evaginaciones denominadas crestas o procesos palatinos descienden inicialmente hacia abajo, a ambos lados de la lengua para posteriormente ascender, horizontalizarse y fusionarse en la línea media.

La modificación en la orientación de los procesos palatinos de vertical a horizontal ha sido interpretada de forma diferente en la bibliografía, habiéndose establecidos diferentes criterios. Pons Tortella (1934) atribuye al remodelado lingual gran importancia en el proceso. Fleischmann (1922) considera que los procesos palatinos se atrofian y surgen, por neoformación, los horizontales.

Dursy (1869) en embriones de cerdo, His (1901) en humanos, Inouye (1912), Bollert Hendrick (1971) en monos, lo asocian al descenso lingual. Humphrey (1971) considera que los reflejos de apertura de la boca son esenciales para el arrastre de la lengua por el descenso mandibular. (Diewert 1974) atribuye gran importancia a los cambios espaciales en la

región oronasal. Sicher (1924) da mucha relevancia al alargamiento anterior de la mandíbula, Jelinek y Peterka (1977) atribuyen a la sincronía entre el desarrollo de los procesos palatinos, lengua, mandíbula y cráneo la elevación. Luke (1976) da mucha importancia a la acción de la musculatura intrínseca y extrínseca de la lengua. Walker y Quarles (1973) atribuyen un papel pasivo a la lengua y activo a las valvas palatinas. Verrusio (1970), Harris (1964; 1967), Wilk y colaboradores (1970), Smile y colaboradores (1971), Larson (1972), Long y colaboradores (1973) y Taylor (1973;1978) opinan que la rectificación de la base del cráneo es decisiva para la elevación. Coleman (1965), Greene y Kochhar (1973), Harris (1967), Kochhar y Johnson (1965), Larson (1962), Walker y Fraser (1956) atribuyen la horizontalización a un remodelado del proceso vertical.

Una vez elevados los proceso palatinos dividen totalmente la porción cefálica de la cavidad primitiva del estomodeo. Dado que las fosas nasales se comunican con esta porción cefálica del estomodeo, la formación del paladar prolonga las cavidades nasales hacia atrás de manera que dichas cavidades comunican eventualmente con la región en que la cámara oral se continúa con la faringe. Tanto los procesos nasales horizontales como los procesos maxilares contribuyen a la formación del paladar, así como el arco del maxilar superior . Desde la región premaxilar (nasal media) se

forma la porción pequeña, triangular y media del paladar. El segmento principal del paladar deriva de aquella porción del maxilar superior procedente de los procesos maxilares.

Cuando estas prolongaciones comienzan su desarrollo, la lengua está situada entre ellas y como se dirigen oblicuamente hacia abajo, sus bordes se sitúan a lo largo del suelo de la boca a ambos lados de la raíz de la lengua.

A medida que avanza el desarrollo, la lengua se desplaza hacia abajo y los bordes de los tabiques palatinos tienen espacio para dirigirse hacia arriba y crecer hacia la línea media.

El paladar primario, premaxilar triangular, se coloca entre los procesos palatinos laterales horizontalizados, con los que se une.

En la octava semana los procesos palatinos se elevan al mismo tiempo que desciende la lengua. Esporrín Bosque (1990) atribuye gran importancia a la formación de la articulación Meckel-yunque que, en ausencia de la articulación temporomandibular, permitiría el descenso de la mandíbula y la liberación del espacio interpalatino.

El cierre del paladar secundario ha sido origen de polémica, parece ser que implica una "fuerza intrínseca" existente en los procesos palatinos, cuya naturaleza no ha sido

adecuadamente determinada. Se han sugerido diferentes mecanismos como es la presencia de un alto contenido de mucopolisacáridos ácidos que atraen agua y hace que los procesos estén túrgidos, así como la presencia de fibroblastos contráctiles en los procesos palatinos.

Estudios en animales de experimentación muestran que la expresión de determinados componentes de la matriz extracelular durante el periodo morfogénico palatino, parecen jugar un papel muy importante a la hora de relacionar el fracaso en la elevación de las crestas y por tanto la formación de un paladar hendido (Singh 1998). Entre los componentes destacan los proteoglicanos (Larson 1961), Larson y colaboradores 1959), (Wacker 1961); condroitín sulfato y ácido hialurónico (Andersen y colaboradores 1967); glucosaminoglicanos (Pratt y colaboradores 1973b); colágeno (Pratt y colaboradores 1971); síntesis de actina y miosina (Lessard y colaboradores 1974), (Barbierz y colaboradores 1975).

Diversas alteraciones genéticas parecen estar también relacionadas con un defecto en la elevación y fusión de los procesos palatinos (Leslie, 2013).

Los procesos palatinos horizontales han de contactar en la línea media para poder fusionarse. Se ha demostrado que el epitelio de contacto es similar ultraestructuralmente en el ratón

(Farbman 1968), rata (Hayward 1969), hámster (Chaudhry y colaboradores 1973) y humanos (Mato y colaboradores 1972) (Mathiessen y colaboradores 1972). Entre epitelio y mesénquima hay una membrana basal (Brinkley y colaboradores 1975) y la superficie epitelial posee microvellosidades (De Angelis y colaboradores 1968), (Mathiessen y colaboradores 1972), Waterman y colaboradores 1974). Al producirse el contacto entre los procesos palatinos se desarrolla una fuerte adhesión (Zeller y colaboradores 1964), (Farbman 1968), (Pourtois 1966, 1968^a, 1968b, 1970). Se ha descrito un incremento de recubrimiento extracelular rico en hidratos de carbono previamente al contacto en la superficie epitelial medial (Pratt y colaboradores 1973), (Pratt y colaboradores 1975), (Green y colaboradores 1974). Se han descrito fenómenos de muerte celular programada en la superficie medial de los procesos palatinos (Mato y colaboradores 1966), (Smiley 1970), (Smiley y colaboradores 1971), (Mathiessen y colaboradores 1972). Esta autólisis se ha asociado a fenómenos de interacción epitelio-mesénquimal (Pourtois 1969), (Tyler y colaboradores 1975), habiéndose descrito inhibidores de este proceso de muerte celular programada como la trenilamina (Baird y colaboradores 1973), hadacina (Fairbanks y colaboradores 1974), factor de crecimiento epitelial (Hassell y colaboradores 1974).

Tras la desaparición del epitelio no puede distinguirse el límite entre superficies, consolidándose la formación de paladar secundario por entremezclamiento de las células mesenquimales (Koch y colaboradores 1973).

A la vez que se van fusionando las crestas palatinas, el septo nasal va creciendo hacia abajo llegando a unirse con el paladar neoformado.

El punto que se considera divide paladar primario y secundario es el conducto incisivo o nasopalatino. Es por tanto, a su vez el que se toma como referencia para dividir y clasificar las malformaciones anteriores o posteriores de labio y paladar.

En el embrión de seis a siete semanas, la lengua y la mandíbula son pequeñas en relación con el complejo facial superior, y el labio inferior se encuentra por detrás del superior. La cara se flexiona hacia la región torácica en desarrollo y la lengua ocupa una posición elevada entre los procesos palatinos. En la novena semana, el complejo facial superior se ha elevado y separado del tórax permitiendo que la lengua y el maxilar inferior crezcan hacia abajo y adelante, de manera tal que el labio inferior se ubica por delante del superior y la lengua se sitúa por debajo de los procesos palatinos.

1.7 Epidemiología y teorías patogénicas de las hendiduras labial y palatina.

El labio y el paladar hendido se encuentran entre las malformaciones congénitas más frecuentes, con una elevada prevalencia, variable según diferentes autores. 10 de cada 10.000 nacidos vivos (Mc Donnell 2013), 14, de cada 10.000 (Bernheim2006), 15 de cada 10.000 (Pavri 2013). Puede presentarse de manera aislada o combinada, cuando se presenta de manera aislada es más frecuente la hendidura palatina 48.5% frente al 51.5% que supone la suma de hendidura labial aislada y hendidura labial asociada a hendidura palatina. Puede aparecer junto a otras malformaciones, 21% de los casos, o formar parte de cuadros sindrómicos específicos con alteraciones cromosómicas, 14,8% de los casos (Mc Donnell 2013). Respecto a la variabilidad por sexos, la hendidura palatina aislada es más frecuente en mujeres, mientras que la hendidura labial aislada o asociada a hendidura palatina es más frecuente en varones (Pavri 2013).

La asociación frecuente del paladar hendido con antecedentes familiares que presentan alguna otra malformación, apoya la hipótesis sobre el importante papel que juega la herencia junto a factores medioambientales dentro de la etiología multifactorial de esta malformación (Zuccherro 2004).

La etiología y patogenia del paladar hendido aislado es todavía desconocida. Sin duda, son factores genéticos y ambientales los que ejercen un importante papel en la iniciación de la malformación. A pesar de los modelos elaborados para demostrar su carácter multifactorial, no se ha conseguido demostrar mediante el análisis estadístico dicho atributo. Sin embargo, no podemos desestimar la razón a priori que valora la posibilidad de que múltiples genes segregados en familias con historia positiva de paladar hendido den lugar a específicos y predecibles fenotipos en los padres de descendencia con esta malformación. Se han buscado variables craneofaciales predecibles que pudieran implicar riesgo de tener descendencia con paladar hendido, y se han descrito posibles características y signos morfométricos en los padres de niños con esta alteración. De todas formas, para confirmar esta teoría sería necesario comprobar de forma retrospectiva la incidencia real de paladar hendido en la descendencia de padres que fueron considerados de riesgo respecto aquellos en los que el historial familiar no fue considerado positivo, es decir de posible riesgo (Prochazcova 1995)

Aunque todavía no estamos en disposición de describir completamente la contribución genética ante ninguna malformación estructural independiente, no sindrómica, los avances producidos en esta última década si que nos han proporcionado un gran número de estudios que dilucidan los

factores genéticos más relevantes. Dada la compleja naturaleza de las malformaciones estructurales no sindrómicas, todavía queda mucha labor por delante para comprender de forma global y profunda, la directa contribución genética en estas alteraciones. Sin embargo, por primera vez, los conocimientos actuales predicen un importante y alcanzable potencial para la prevención futura (Mitchel 1997).

Los avances técnicos están alterando de forma radical nuestros conceptos actuales sobre el desarrollo craneofacial prenatal. Estos avances incluyen conceptos tales como la formación de las capas germinativas, el establecimiento del proceso frontal en el tubo neural, y la forma a través de la cual se produce el control de la segmentación mediante actividad reguladora genética en los centros nerviosos así como en las células derivadas de la cresta neural. El sistema de estudio es complejo. Se sabe mucho más sobre el modo por el que se establecen las uniones intercelulares. Por ejemplo, las asociaciones que se producen por la migración de las células de la cresta neural con las consiguientes interacciones que regulan la inducción, el crecimiento y la muerte celular programada. Estas interacciones son mediadas por medio de varios grupos de moléculas reguladoras FGF y TGF α , TGF β y la familia de ácidos como ácido esteroideo, retinoico y tiroideo. (Vieira 2006) (Iwata 2011).

Se han producido también avances considerables respecto al actual entendimiento de los mecanismos encargados de la formación del paladar primario y secundario, tales como el crecimiento de los tabiques, los movimientos morfogenéticos, así como el fenómeno de fusión de procesos nasales y maxilares y elevación de procesos maxilares y fusión de los mismos.

La diferenciación de los tejidos esqueléticos ha sido también tema de considerables avances. La genética molecular junto con modelos animales para humanos están proporcionando muchos datos respecto al origen de las deformidades. Un modelo de ratón para el Síndrome alcohólico fetal ,por alcoholismo materno, una forma leve de holoprosencefalia, demuestra una deficiencia en la línea media de la placa neural anterior que origina un posicionamiento más próximo de las placodas olfatorias, junto con otros cambios secundarios. La ingestión del alcohol durante la gestación provoca una alteración directa en la formación del paladar, produce un retraso del crecimiento y la diferenciación celular en los ratones, con aumento nuclear, citoplasmático y en general del volumen celular, aumento del grosor epitelial y disminución de la densidad celular (De Oliveira 1993).

En casos de malformaciones múltiples no existe una asociación directa de aparición de hendidura labial o palatina

con el consumo de alcohol durante el embarazo. Sin embargo sí que se demuestra que el abuso de alcohol durante el embarazo puede ser causa de aparición de un paladar y/o labio leporino aislado (Munger 1996).

La mayoría de los casos de hendidura palatina o labial implican una etiología de carácter multifactorial, por ello, su prevención primaria depende previamente del conocimiento de los mecanismos implicados en el proceso de formación del paladar secundario y de este modo, poder valorar a qué nivel se produce la interacción de determinados agentes que bloquean ese proceso y dan origen a esta común malformación. Variaciones genéticas en $TGF\alpha$, $TGF\beta$, $RAR\alpha$, NADH deshidrogenasa, IRF6, han sido involucrados como factores genéticos contribuyentes (Singh 2012) (Iwata 2012).

Múltiples casos de paladar hendido asociados o no a hendidura labial y pertenecientes a situaciones clínicas no sindrómicas, es decir, no pertenecientes a los desordenes Mendelianos descritos en los que estas malformaciones se asocian a otras en forma de Síndrome, demuestran claramente su origen multigenético. Suelen ser normalmente variaciones en los alelos que actúan a diferentes niveles ($TGF\alpha$, $TGF\beta$) determinando una fracción del riesgo. En algunos casos el origen es claramente monogenético ligado a un gen autosómico

dominante o de herencia recesiva (Houdayer 1998),(Grosen 2012).

Se han publicado también estudios que valoran las asociaciones entre exposiciones maternas, marcadores genéticos y hendiduras faciales en general. Ya hemos descrito la relación entre el factor de crecimiento TGF α y el paladar hendido. Parece existir una relación genética –ambiental en niños con un incremento poco común del alelo C2 a nivel del TGF α que fueron expuestos a un hábito de tabaquismo materno. Se demostró un incremento de 6.16 veces mayor de riesgo a desarrollar paladar hendido en aquellos niños cuyas madres consumían 10 o menos cigarrillos diarios, y del 8.69 veces en aquellos en que el consumo superaba los 10 cigarrillos diarios. Esta asociación refleja una interacción subyacente entre el tabaquismo materno y el genotipo del niño (Hwang 1995) (Beaty 1997).

Un historial familiar positivo en el que se describe la presencia de un individuo con paladar hendido asociado o no a hendidura labial y de manifestación no sindrómica, determina un riesgo directo de tener un hermano con la misma alteración de forma recurrente, es decir, existe relación directa entre riesgo de hermano con historial familiar positivo . Es importante el estudio minucioso del historial familiar, muy complicado en determinadas circunstancias, a la hora de valorar e informar

sobre el riesgo potencial genético en algunas familias (Romitti 1997).

Se encuentra ciertamente descrita la interacción naturaleza-nutrición a la hora de asociar de forma directa la relación entre la exposición a determinados factores externos ambientales, durante el primer trimestre de embarazo, y la formación de labio y paladar hendido. Considerando el etanol, el ácido retinoico y los antagonistas del calcio, como productos claramente teratógenos. Sin embargo la acusación a exposiciones más comunes como la cafeína no ha sido directamente demostrada (Houdayer 1998)(Johansen, 2009).

Se ha estudiado incluso la proximidad de la vivienda donde reside la mujer embarazada, a zonas de contaminación química, tales como áreas de vertidos, para valorar el posible riesgo de afectación del embrión, concretamente de lesiones en el tubo neural. Los resultados de los citados estudios, sin embargo, no han dado lugar a valores de estimación significativos (Croen 1997).

En el caso de que la madre de un hijo con paladar hendido, cambie de residencia para eliminar posible riesgo de recurrencia con un segundo hijo, no modifica esta circunstancia. Si que variaría en el caso de cambio de pareja aunque la residencia sea la misma (Montenegro 1995)

Numerosas circunstancias, como vemos, de carácter puramente externo que incidan sobre la futura madre, pueden afectar de forma decisiva en la evolución del embrión. Se han elaborado modelos experimentales en ratones, que incluso valoran la posibilidad de provocar riesgo de malformaciones craneofaciales, entre ellas paladar hendido, en madres sometidas a la prueba de amniocentesis. La lesión se describe como oligohidramnios secundario a una punción amniótica descuidada o negligente (MacIntyre 1995).

1.8 Clasificación de las hendiduras labiales y palatinas.

Se toma el agujero incisivo como punto de referencia para la clasificación, de tal manera que tenemos malformaciones anteriores y posteriores a dicho agujero incisivo.

Las deformaciones anteriores al agujero incisivo son:

1. Hendidura labial sin afectar a la apófisis alveolar.
Queilosquisis.
2. Hendidura que afecta solo a la apófisis alveolar:
Gnatosquisis.
3. Hendidura labial con afectación de la apófisis alveolar.
Queilognatosquisis.

Los defectos situados por detrás del agujero incisivo dependen de la falta de fusión de las crestas palatinas y son:

1. Paladar hendido. Palatosquisis
2. Úvula hendida. Uveosquisis.

Debido a que la fusión de las crestas palatinas se produce en estadios más tardíos a la formación del labio superior, ambos tipos de deformaciones anteriores y posteriores se consideran entidades completamente diferentes.

Existe una tercera categoría de clasificar las deformaciones que constituiría una combinación entre las dos anteriores citadas.

La gravedad de los defectos anteriores varía mucho en gravedad, desde una ligera hendidura anterior apenas visible en el borde mucocutáneo hasta serias hendiduras que se prolongan hasta la nariz y que puede llegar incluso hasta abarcar el maxilar superior quedando éste separado entre el incisivo lateral y el canino, o incluso llegar hasta el mismo agujero incisivo.

De la misma manera ocurre con los defectos posteriores, estas hendiduras pueden limitarse a la totalidad del paladar secundario o quedar circunscritas a la úvula.

Objetivos

Objetivos

Los objetivos del presente trabajo son:

Describir en embriones humanos la cronología del desarrollo y crecimiento de labio superior, paladar primario y paladar secundario referidas a los estadios de la Carnegie, en periodo embrionario y fetal temprano.

Determinar en embriones humanos los posibles mecanismos que intervienen en la aparición de la hendidura labial y la hendidura palatina, definiendo el periodo crítico en el cual en el caso de que actúen agentes teratógenos puede desarrollarse una alteración que lleve a la aparición de hendidura labial, hendidura palatina o ambas

Conocer las repercusiones que el desarrollo de otras estructuras craneofaciales y de otros territorios tienen en la evolución de hendidura palatina y hendidura labial.

Materiales y métodos.

Material y método.

Para la realización de este trabajo se han estudiado 40 especímenes humanos pertenecientes al Instituto de embriología de la Universidad Complutense de Madrid. De la totalidad de los observados se han seleccionado 18, por sus características de edad, tinción, sección, grado de conservación y utilidad para su descripción cuyas características están recogidas en la tabla 1.

Los embriones seleccionados poseen una longitud G-L (greatest length) que abarca desde los 2,5 mm a los 29 mm, 24 a 57 días de gestación, y los fetos una longitud G-L comprendida entre los 37 y 43 mm, 9 y 10 semanas de gestación según los estadios de la Carnegie (O'Rahilly 2010).

Todos los especímenes estudiados fueron, en su día, fijados en formol neutro al 10%; seguidamente se deshidrataron con alcohol a concentraciones crecientes aclarando algunos casos con benzoato de metilo (especimen GI-4) y con butanol (el resto) e incluidos posteriormente en parafina según la técnica de Peterfi. Posteriormente se realizaron cortes seriados de grosores entre 10 y 25 micras en los tres planos del espacio. Las secciones fueron teñidas con diferentes técnicas (hematoxilina-eosina, aran, tricrómico de Masson) según el proceder de Mac Manus y Mowry (1968).

El estudio morfodescriptivo se realizó con un microscopio Nikon (Chiyoda, Tokio, Japón) modelo Eclipse 50i con cámara acoplada Nikon digital camera DXM 1200 conectada a PC para permitir la captura y digitalización de las imágenes mediante la aplicación ACT-1 de Nikon versión 2.20. Las imágenes así obtenidas se trataron como una capa no modificada en archivos individuales, capa sobre la que se superpuso otra con las distintas notaciones para identificar las diferentes estructuras mediante la aplicación Adobe photoshop CS3 versión 10.0.1. (San José, California, Estados Unidos).

ESPECÍMENES

Embrión	Plano de sección	Longitud GL	Estadio Carnegie
CANO	Sagital	2,5 mm	11
CN-7	Transversal	5 mm	13
OY-4	Transversal	6 mm	14
PT-11	Transversal	8 mm	15
BOT	Transversal	11 mm	16
MAR-12	Transversal	12 mm	16
NO	Transversal	15 mm	18
CIV-2	Transversal	16 mm	18
CIV-1	Frontal	18 mm	18
PR	Sagital	19 mm	20
CAS	Frontal	20 mm	20
NO-2	Frontal	21 mm	20
GV-7	Sagital	22 mm	21
GI-4	Frontal	26,5 mm	22
BR-4	Frontal	28 mm	23
CAS-2	Transversal	29 mm	23
ME-1	Frontal	37 mm	9 semanas
JR-3	Frontal	43 mm	10 semanas

Tabla 1. Relación de especímenes estudiados.

LISTADO DE SIGNATURAS EN LAS IMÁGENES

SIGNATURA	ESTRUCTURA ANATÓMICA
A	cavidad amniótica
A1	paladar primario
AD	atrio derecho
AI	atrio izquierdo
AT	atrio común
AV	orificio atrio ventricular
BC	bulbus cordi
BN	membrana buconasal
BU	nervio bucal
CB	cavidad bucal
CE	cordón epitelial
CM	cartílago de Meckel
CN	cápsula nasal
CP	coanas primitivas
CT	cuerda del tímpano
D	nervio dentario
DD	almohadilla endocárdica dextro dorsal
DG	músculo digástrico
E	estomodeo
EL	esbozo lingual
EM	esbozo mandibular
FN	fosa nasal
FO	fosa olfativa
GH	músculo genihioideo
GI	músculo geniogloso
GL	glándula submandibular
GP	glándula parótida
GSM	ganglio submandibular
H	músculo Hiogloso
HE	hueso estribo
HH	hueso hioides
HP	hueso palatino
I	meato inferior
IC	intestino cefálico
L	nervio lingual

LN	conducto lacrimonasal
LS	músculo lingual superior
M	meato medio
m	primer molar decidua
MM	mamelón mandibular
MA	mamelón maxilar
MB	membrana bucofaríngea
MBC	músculo buccinador
MI	músculo milohioideo
MS	músculo masetero
MT	músculo temporal
Mx	nervio maxilar
NA	narina
NE	proceso nasal externo
NI	proceso nasal interno
NM	nervio mentoniano
NO	fila nerviosa olfatoria
NS	conducto nasopalatino
O	neuroporo anterior
OVN	órgano vómero nasal
PC	músculo platisma colli
PE	músculo periestafilino externo
PE	músculo pterigoideo externo
PH	proceso palatino horizontal
PI	músculo pterigoideo interno
PM	nervio palatino mayor
PN	placoda nasal
PO	vesícula prosencefálica
PV	proceso palatino vertical
SL	Conducto sublingual
SN	septo nasal
SNL	surco nasolacrimal
ST	conducto de Stenon
SV	almohadilla endocárdica sinistral ventral
T	músculo transverso de la lengua
TA	tronco arterial

V	ventrículo común
VB	vestíbulo bucal
VN	cartílago vómeronasal
VO	vesícula óptica
VT	vesícula telencefálica
W	Conducto de Wharton
XII	nervio hipogloso
Y	esbozo del yunque
*	comunicación nasopalatina anormal
**	comunicación nasopalatina anormal

Resultados

Resultados

Estadio 11 de la Carnegie.

En el principio del periodo embrionario, cuando el embrión es aún somítico, el intestino cefálico en su extremo craneal contacta con el estomodeo. Se interpone entre la luz intestinal y la depresión ectodérmica del estomodeo la membrana bucofaríngea constituida por aposición ectoendodérmica. Hemos seleccionado para la descripción de este estadio al embrión CANO de 14 somitas y 2,5 mm de longitud que se corresponde aproximadamente a 29 días de gestación (figuras 1, 2, 3 y 4), podemos observar que la membrana bucofaríngea (MB) posee en su zona lateral una llamativa cantidad de mesodermo interpuesto, que hacia la línea media se reduce considerablemente, observándose zonas de contacto directo ectoendodérmicas (fig. 2 y 3).

El estomodeo (E), boca primitiva, está formado por una depresión ectodérmica abierta directamente a la cavidad amniótica y se encuentra limitado entre el mamelón frontal y el relieve de la cavidad pericárdica, en cuyo interior se sitúa el tubo cardíaco del que observamos el bulbus cordi (BC) y el tronco arterial (TA).

En el mamelón frontal se distingue el tubo encefálico en fase de tres vesículas y dos curvaturas siendo muy evidente la vesícula

prosencefálica (PO) en la que aún se aprecia el neuroporo anterior (NO) (fig. 4) y por tanto su comunicación con la vesícula amniótica. Entre el tubo neural, el ectodermo del estomodeo y el endodermo del intestino faríngeo, se interpone mesénquima constituido en este periodo por escasos elementos celulares.

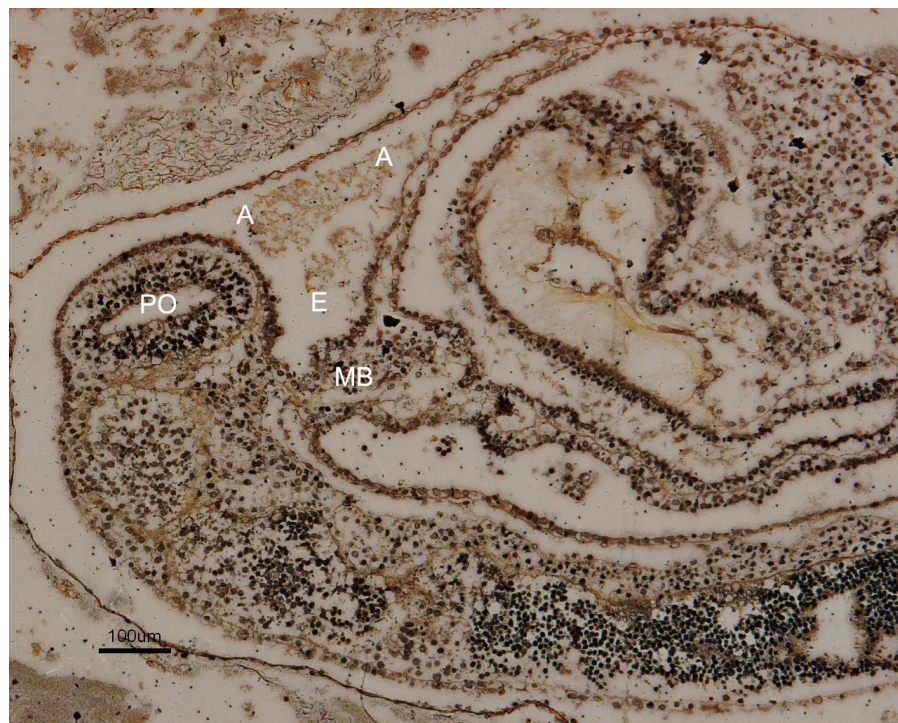


Figura 1. CANO 14 somitas. Estadio 11 de la Carnegie

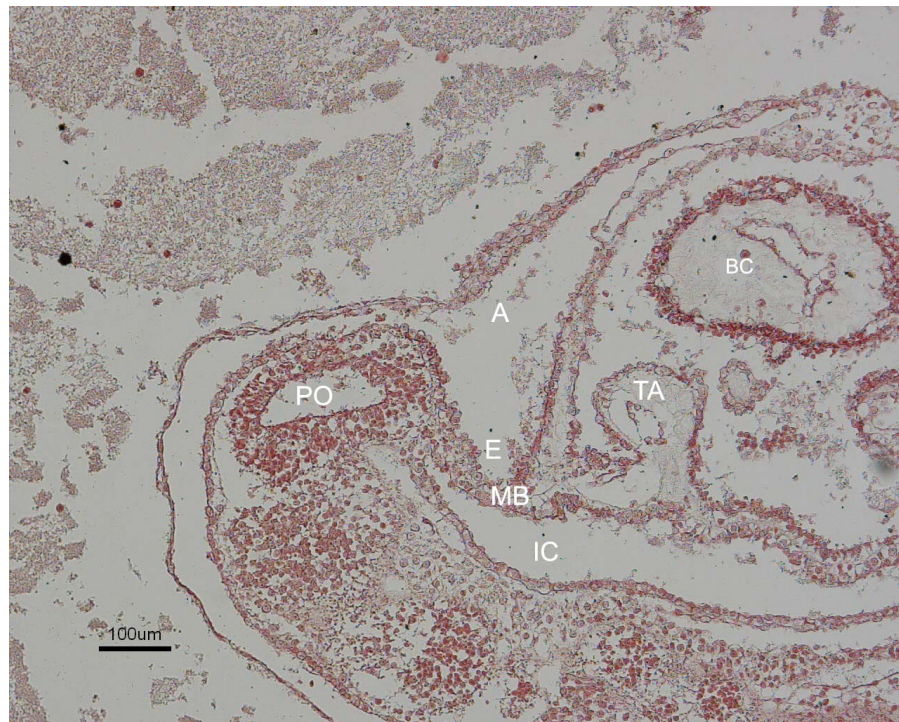


Figura 2. CANO 14 somitas. Estadio 11 de la Carnegie

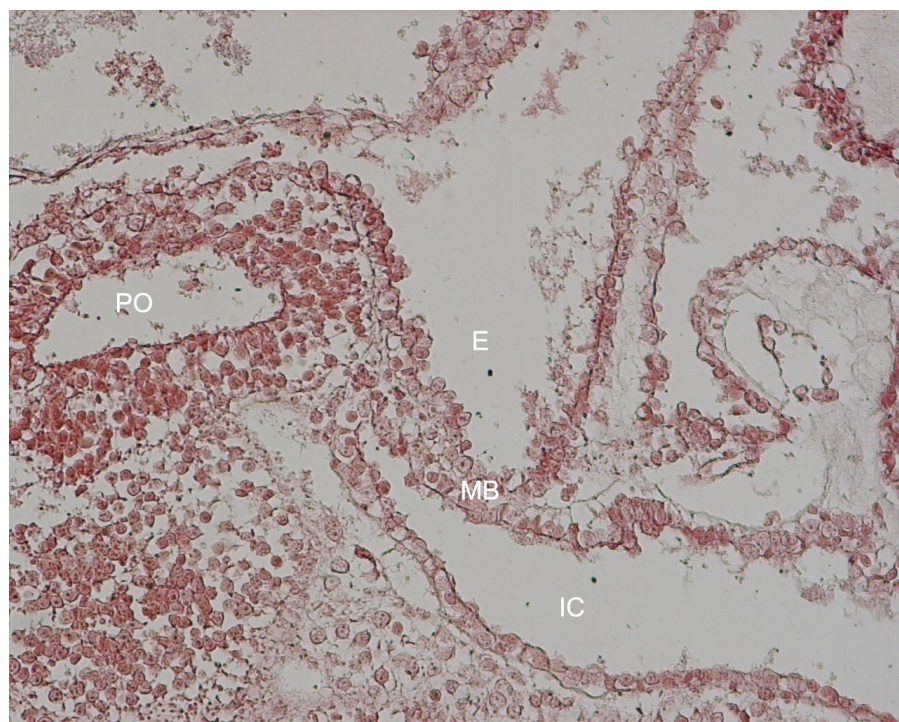


Figura 3. CANO 14 somitas. Estadio 11 de la Carnegie



Figura 4. CANO 14 somitas. Estadio 11 de la Carnegie

Estadio 13 de la Carnegie.

En este estadio, la vesícula prosencefálica adquiere un enorme desarrollo en sentido horizontal y craneocaudal, elegimos para la descripción de este estadio al embrión CN7, de 5 mm, figuras 5 a 8. De sus paredes laterales emerge por evaginación (fig.5) la vesícula óptica (VO), que se dirige lateramente hacia el ectodermo de superficie, no estableciendo aún contacto con él, ya que se aprecia tejido mesodérmico interpuesto. La vesícula óptica ofrece una forma irregular con una pared externa muy engrosada que estrecha la comunicación entre su luz y la de la vesícula prosencefálica (PO). El estomodeo lo delimita en esta fase el mamelón frontal y el relieve pericárdico, quedando constituido por una estrecha hendidura ante el aumento del desarrollo del tubo cardiaco.

En el interior de la vesícula cardiaca se distingue el atrio común (AT), el ventrículo común (V), orificio atrio ventricular (AV), tronco arterial (TA) y las almohadillas endocárdicas sinistro ventral (SV) y dextro dorsal (DD).

El epiblasto de la porción ventrolateral del mamelón frontal presenta un engrosamiento (figs. 6, 7 y 8) que representan las placodas nasales derecha e izquierda (PN). Las citadas placodas están constituidas por epitelio poliestratificado, (fig.7) separado del mesodermo por una nítida basal. Las placodas poseen una

orientación parasagital, ligeramente inclinadas cráneo caudalmente y orientadas caudo lateralmente, estando en contacto con el líquido amniótico y por tanto con la cavidad del mismo nombre. El mesénquima subyacente a la placoda carece de signos de diferenciación.



Figura 5. CN7 Estadio 13 de la Carnegie

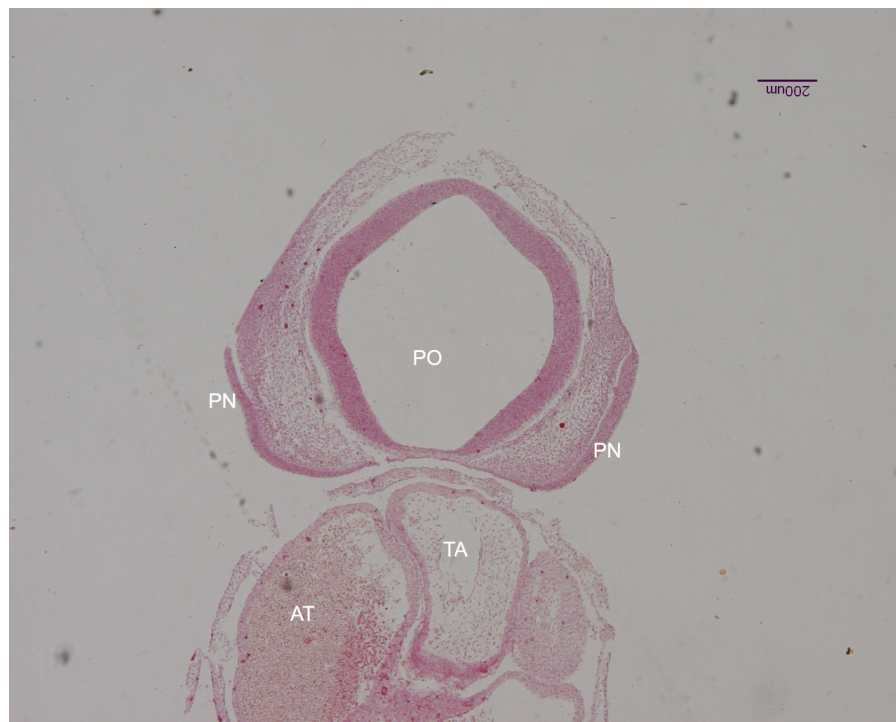


Figura 6. CN7 Estadio 13 de la Carnegie

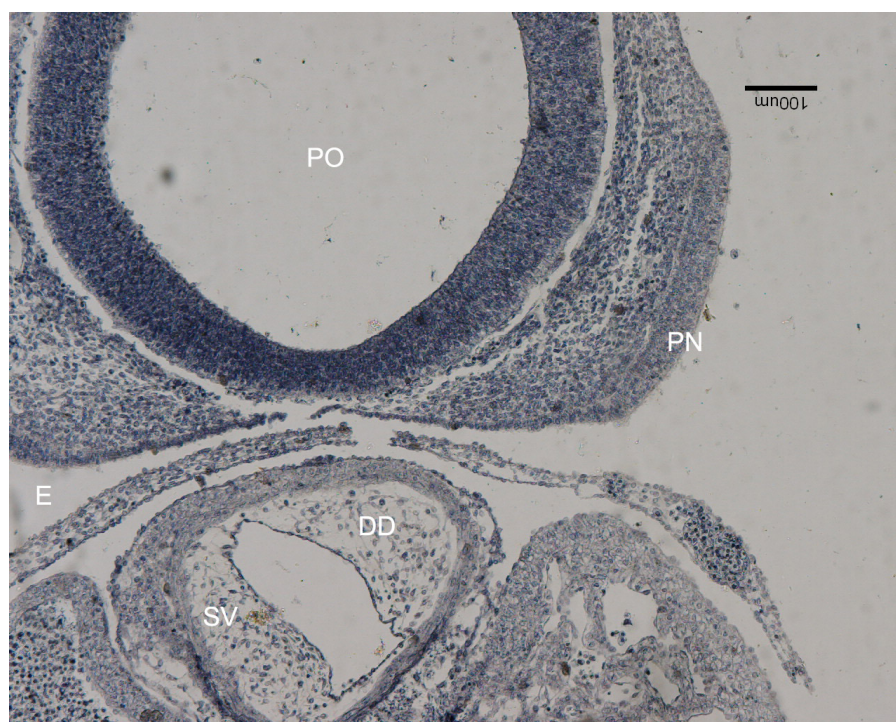


Figura 7. CN7 Estadio 13 de la Carnegie



Figura 8. CN7 Estadio 13 de la Carnegie

Estadio 14 de la Carnegie.

En esta fase se evidencia la presencia del mamelón mandibular, por lo que el estomodeo queda delimitado entre el mamelón frontal y el mamelón mandibular. La placoda nasal (PN) inicia por delante del mamelón mandibular (MM) un proceso de invaginación que pensamos es activo, dirigido hacia arriba, hacia adentro y hacia el dorso (fig 9, 10, 11, 12, y 13) por lo que comienza a delimitar en el mamelón frontal los procesos nasal interno y nasal externo (NI,NE), delimitándose entre ambos la fosa olfativa (FO) que en esta fase es una suave depresión abierta externamente en la superficie lateral del mamelón frontal.

El epitelio de la fosa olfativa es pluriestratificado (fig.13, y 10) y separado del mesodermo subyacente por una nítida basal. Las paredes de la fosa son asimétricas, ya que su lámina interna es larga y de orientación parasagital mientras que la externa, mucho más gruesa y corta, posee una inclinación oblicua hacia abajo y hacia fuera.

Describimos el embrión OY4 de 6 mm. A nivel del mamelón mandibular (fig. 14) se sitúa el extremo dorsal del epitelio del fondo de la vesícula olfativa. En el mamelón frontal, la vesícula prosencefálica tiene una luz estrecha a nivel basal mientras que a nivel cefálico comienza a dilatarse para esbozar las vesículas telencefálicas, muy poco desarrolladas en este estadio.

Topográficamente es llamativo que las fosas olfativas se sitúan en la pared externa del mamelón frontal en posición muy anterior, tanto que están prácticamente en su totalidad por delante del mamelón mandibular.



Figura 9. OY4 Estadío 14 de la Carnegie

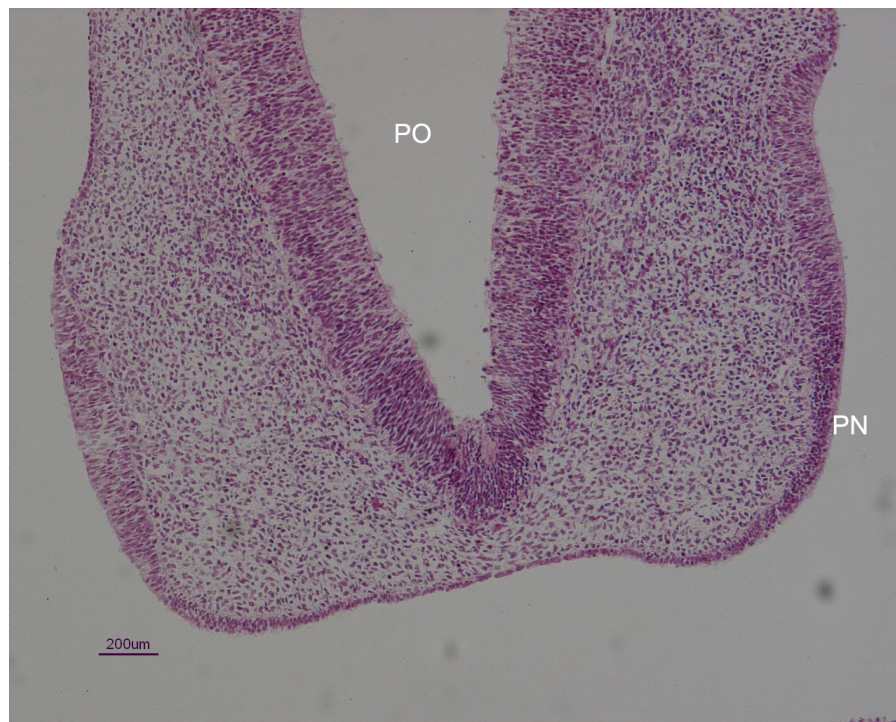


Figura 10. OY4 Estadio 14 de la Carnegie



Figura 11. OY4 Estadio 14 de la Carnegie

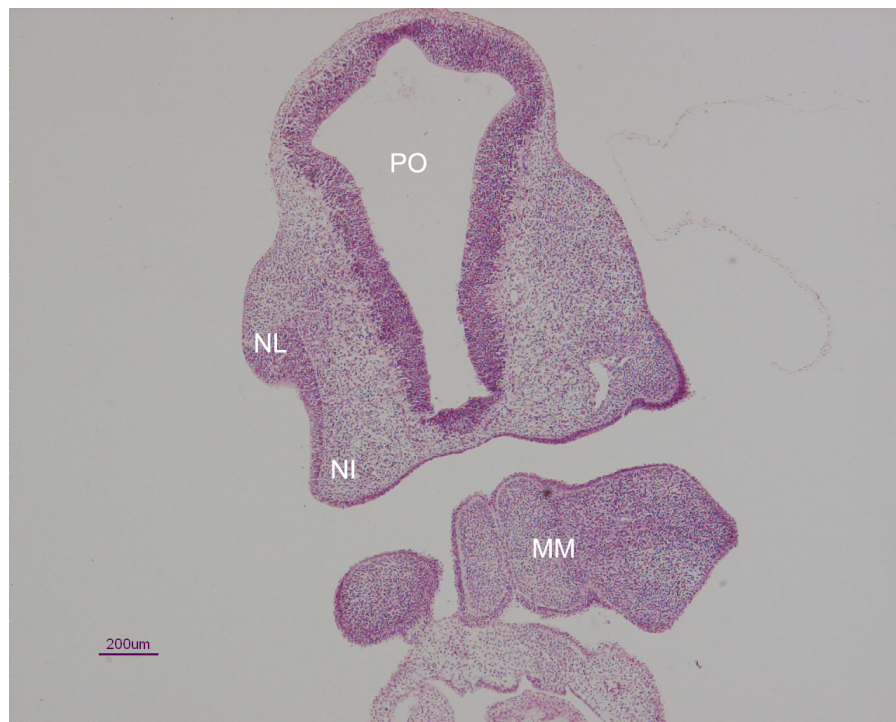


Figura 12. OY4 Estadio 14 de la Carnegie

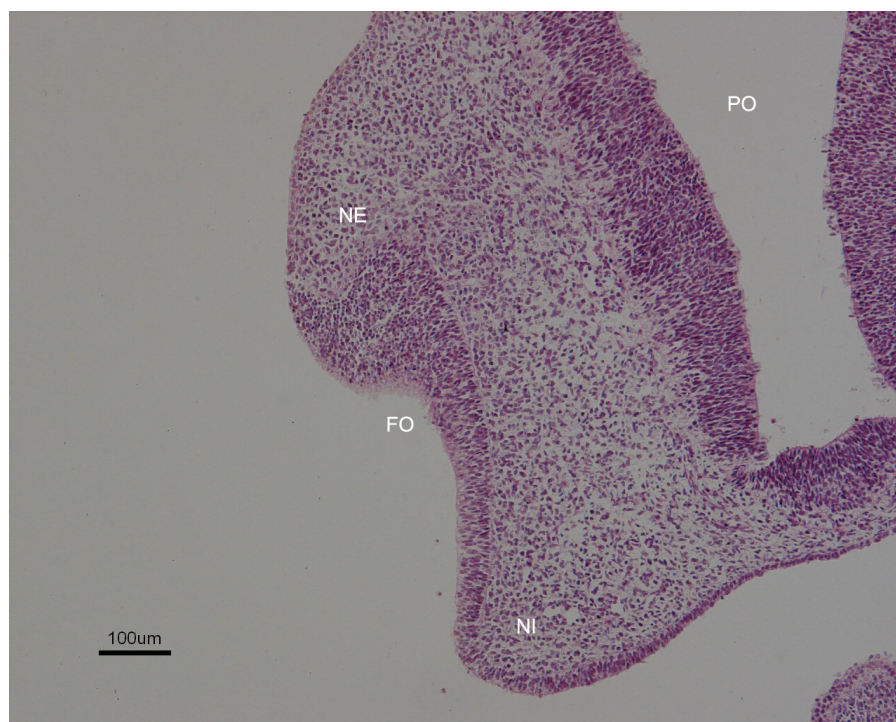


Figura 13. OY4 Estadio 14 de la Carnegie

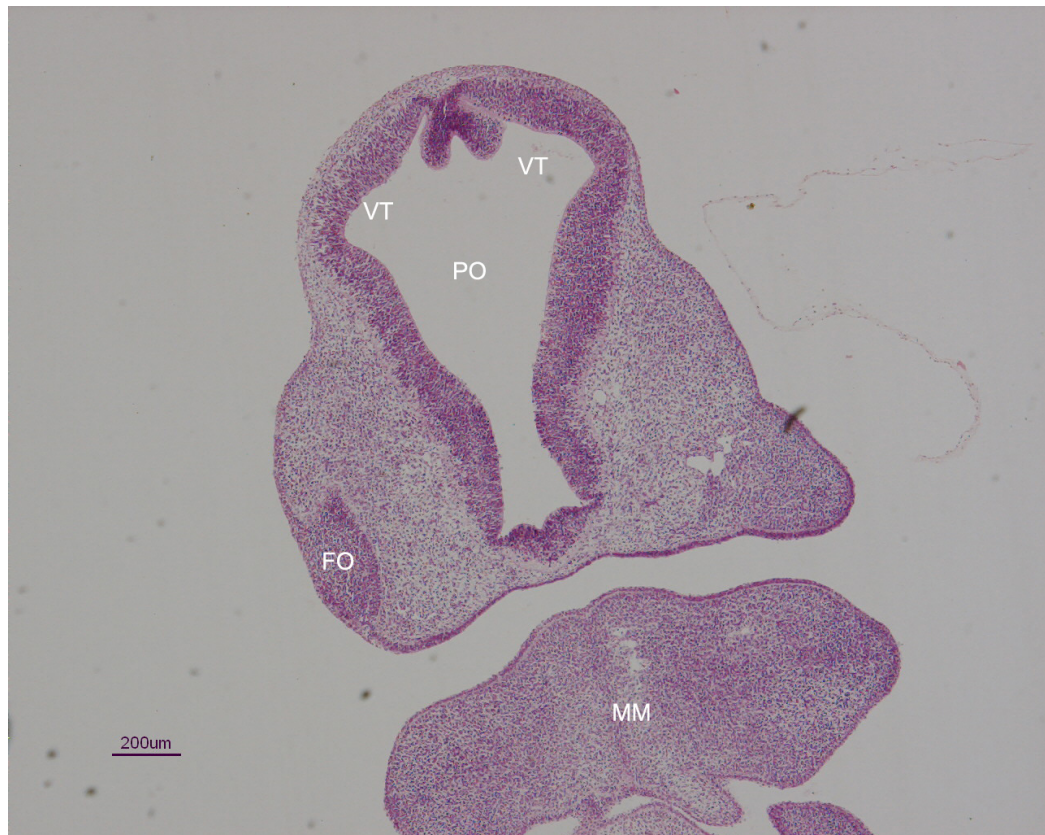


Figura 14. OY4 Estadio 14 de la Carnegie

Estadio 15 de la Carnegie

En la secuencia de cortes seleccionados del embrión, PT11, (fig.15 a 21) perteneciente al estadio 15 de Carnegie, se evidencia el cambio de orientación experimentado por la fosa olfativa, que de estar abierta a la superficie lateral del mamelón frontal ha pasado a desembocar en la cara inferior del citado mamelón. Tal y como sucede en el estadio previo, la fosa olfativa se localiza por delante del proceso mandibular y se relaciona con la vesícula cardíaca de la que está separada por una hendidura transversal.

En este estadio, el esbozo cardíaco ha experimentado un marcado desarrollo, pudiendo distinguirse los atrios derecho e izquierdo (AD, AI), el seno venoso (SV) con sus valvas, el ventrículo común (V), el bulbus cordi (BC), el tronco arterioso (TA) y las almohadillas endocárdicas sinistroventral y dextrodorsal, que contactan para tabicar y separar la aorta de la pulmonar (fig. 19 y 20). En el mamelón frontal, las vesículas telencefálicas comienzan a expandirse lateralmente en la porción anterior de la vesícula prosencefálica, presentando la luz de la cita vesícula un notable incremento en sentido transversal, circunstancia que coincide con un incremento en el diámetro transversal del polo cefálico.

Las vesículas olfativas (FO) han cambiado la orientación en su proceso de invaginación, dirigiéndose ahora hacia atrás, hacia arriba y hacia fuera. Su extremo posterior (fig. 19 y 20) está

separado del estomodeo por una fina membrana, la membrana buconasal (BN) que establece la posición inicial del esbozo de la coana primitiva.

El epitelio de la vesícula olfativa continúa con una marcada poliestratificación y mantiene la asimetría observada en estadios previos. La lámina interna del epitelio de la bolsa olfativa es más larga y posee una marcada inclinación hacia arriba y hacia afuera, mientras que el epitelio externo de la bolsa, mucho más corto, posee una orientación oblicua hacia abajo y hacia afuera. El mesénquima subyacente al epitelio interno de la bolsa olfativa (fig.15, 16, 17,18, 19) aparece condensado y separado del epitelio por la basal. Siguen distinguiéndose con claridad los mamelones nasales externo e interno (NE, NI).

En la línea media y coincidiendo con la posición del bulbus cordi y tronco arterial y atrio derecho, se observa una amplia y suave depresión, surco interglobular, que separa a los mamelones nasales internos de ambos lados.



Figura 15. PT11 Estadio 15 de la Carnegie



Figura 16. PT11 Estadio 15 de la Carnegie



Figura 17. PT11 Estadío 15 de la Carnegie

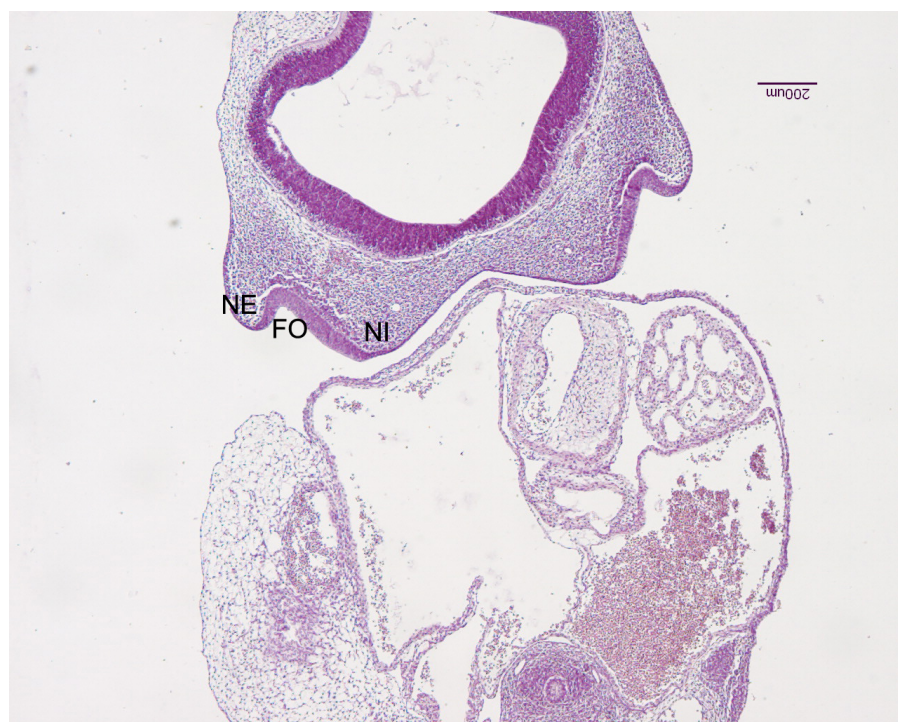


Figura 18. PT11 Estadío 15 de la Carnegie

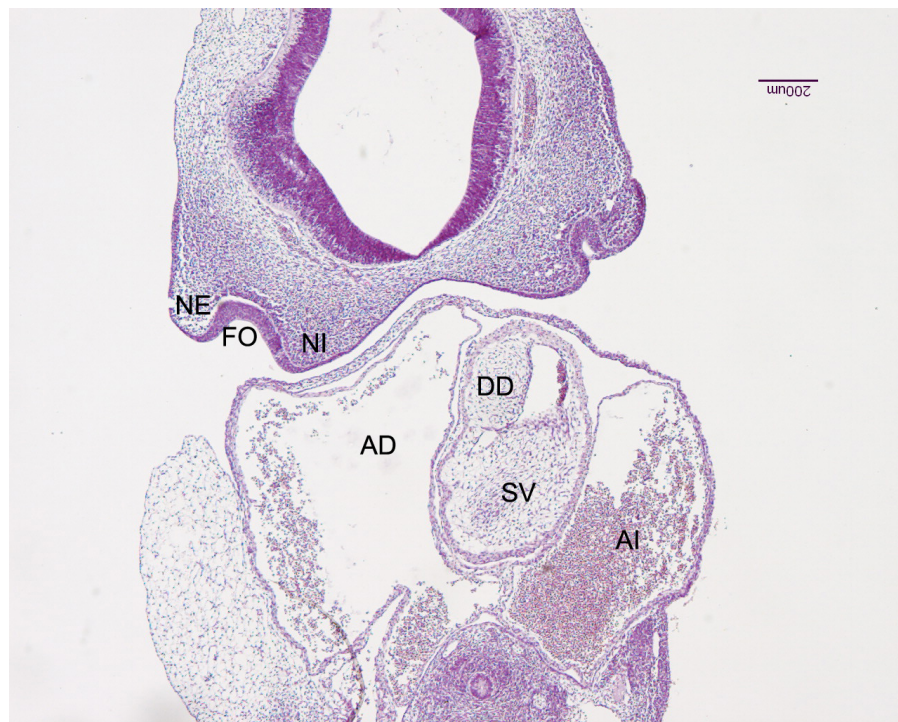


Figura 19. PT11 Estadío 15 de la Carnegie

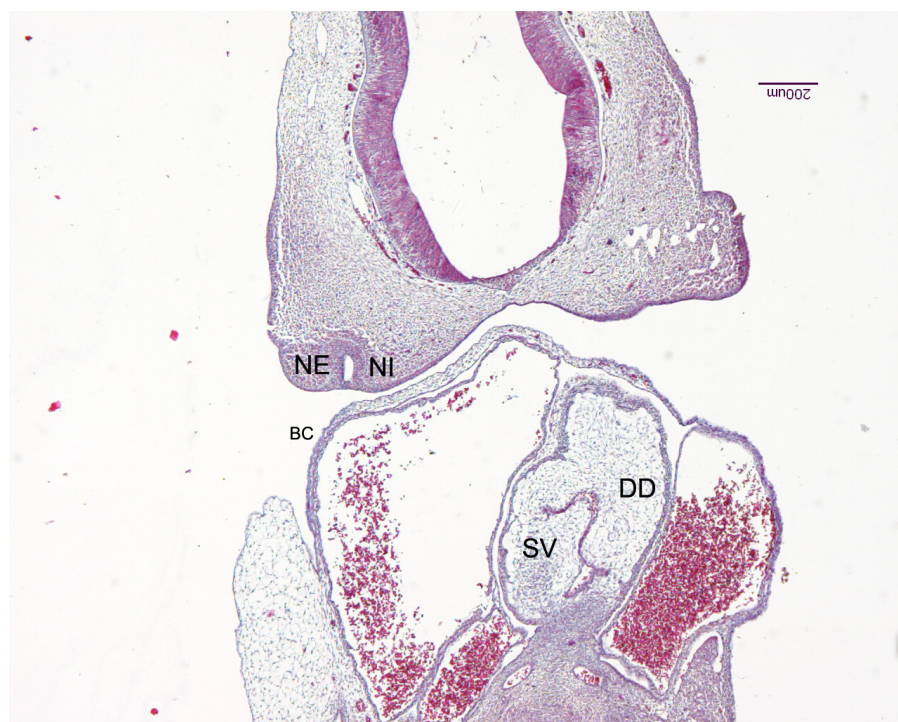


Figura 20. PT11 Estadío 15 de la Carnegie

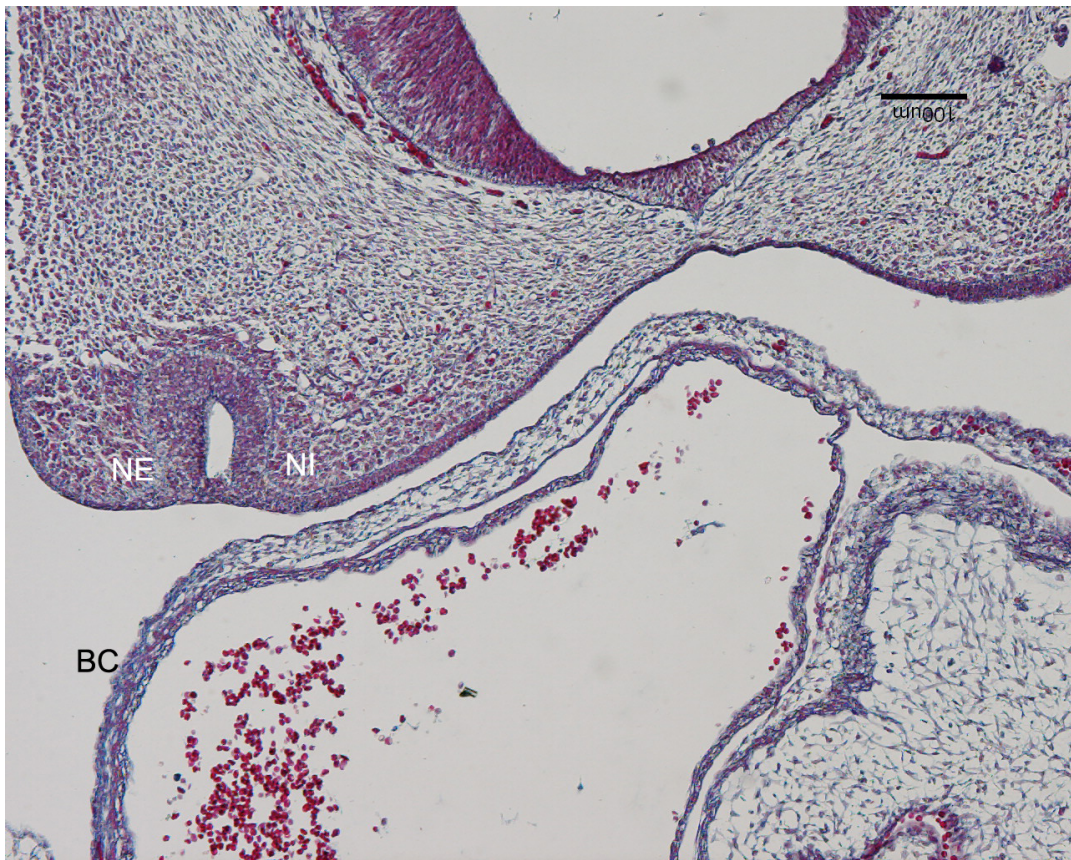


Figura 21. PT11 Estadio 15 de la Carnegie

Estadio 16 de la Carnegie.

Para ilustrar la evolución que el paladar primario presenta en este estadio, se han seleccionado los embriones BOT de 11mm y MAR de 12mm. ya que ofrecen pequeñas diferencias evolutivas en el proceso maxilar.

En embriones de 11mm. (fig. 22 a 28) las fosas olfativas están delimitadas en los cortes más anteriores (Fig. 22 a 24) por los mamelones nasal interno y nasal externo. Continúan abiertas a la porción externa de la cara inferior del mamelón frontal, siendo el eje mayor de las fosas oblicuo hacia arriba y hacia fuera. Los epitelios interno y externo de la fosa olfativa mantienen en estos niveles la asimetría observada en el estadio anterior, visualizándose sobre el epitelio interno (fig. 22-23-24) una condensación mesodérmica de aspecto parecido al observado en el estadio 15 de Carnegie. Entre los mamelones nasales internos (fig.22), se sitúa el surco interglobular, surco suave adaptado al relieve pericárdico. En esta zona las vesículas telencefálicas prosiguen su expansión laterodorsal condicionando el incremento transversal del polo cefálico en esta región.

En dirección dorsal comienza a insinuarse el mamelón maxilar (fig 25-26-27 y 28) (MA) que al aproximarse y contactar con el nasal interno originan un cordón epitelial sólido y continuo entre la vesícula olfativa y el ectodermo de superficie. La aparición de este

cordón y el contacto entre ambos mamelones determina que la fosa olfativa a este nivel quede aislada del exterior.

Externamente y entre el mamelón nasal externo y el mamelón maxilar se delimita el surco nasolacrimal (SNL).



Figura 22. BOT Estadio 16 de la Carnegie

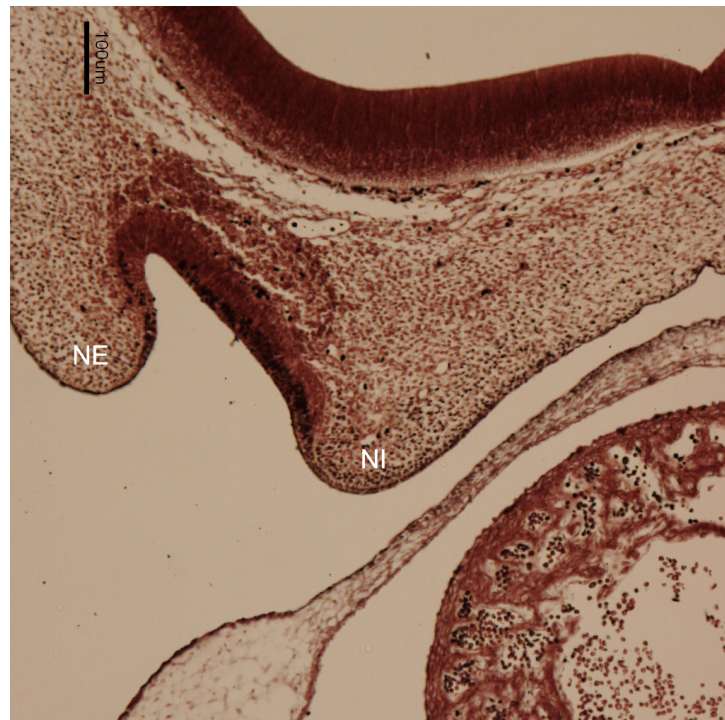


Figura 23. BOT Estadio 16 de la Carnegie

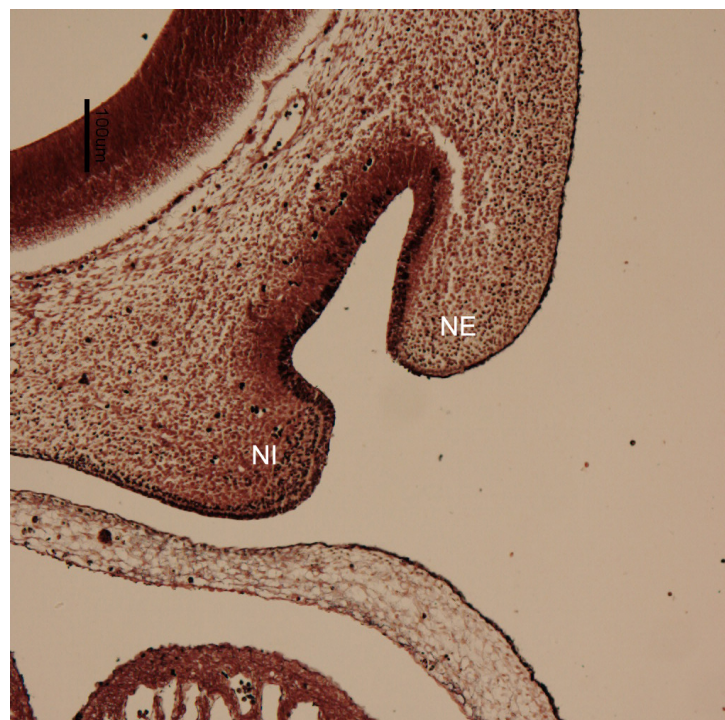


Figura 24. BOT Estadio 16 de la Carnegie

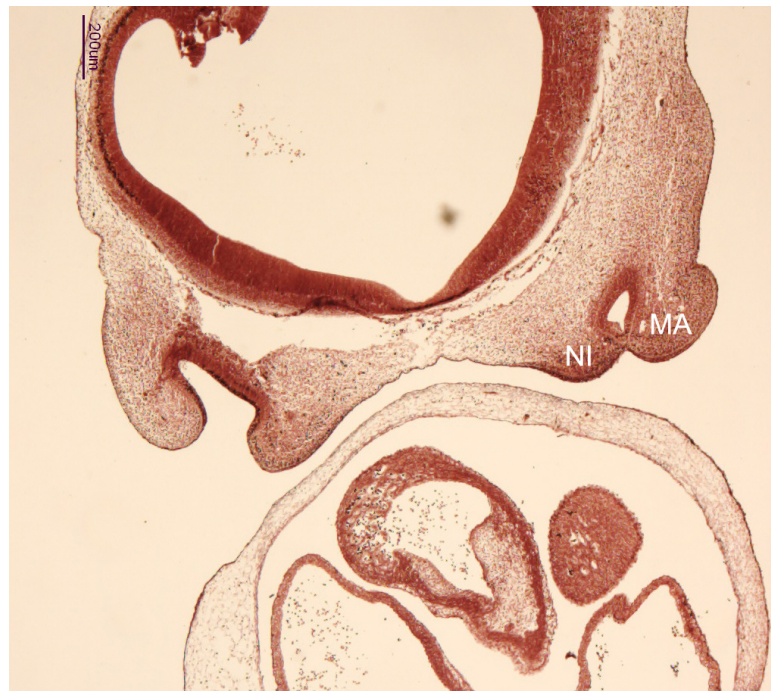


Figura 25. BOT Estadio 16 de la Carnegie

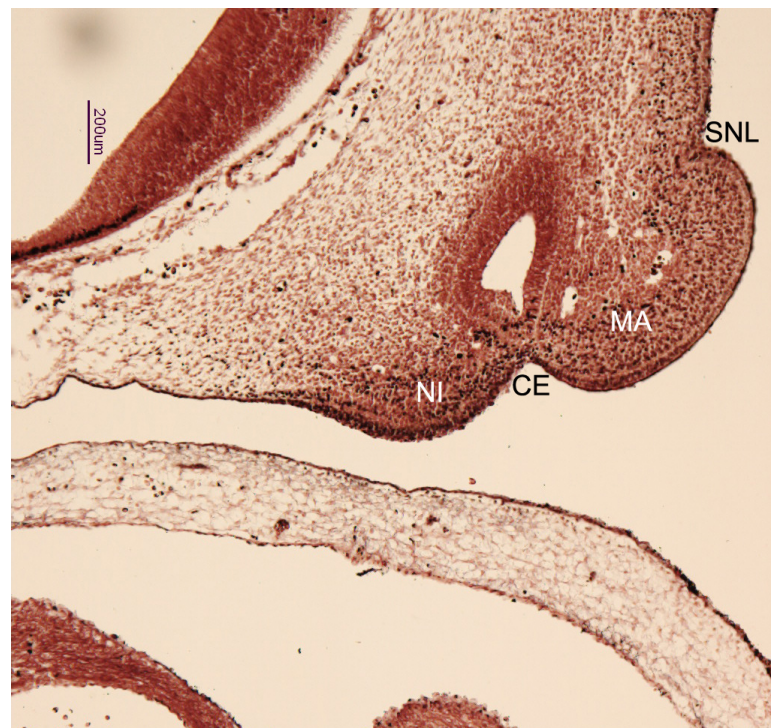


Figura 26. BOT Estadio 16 de la Carnegie

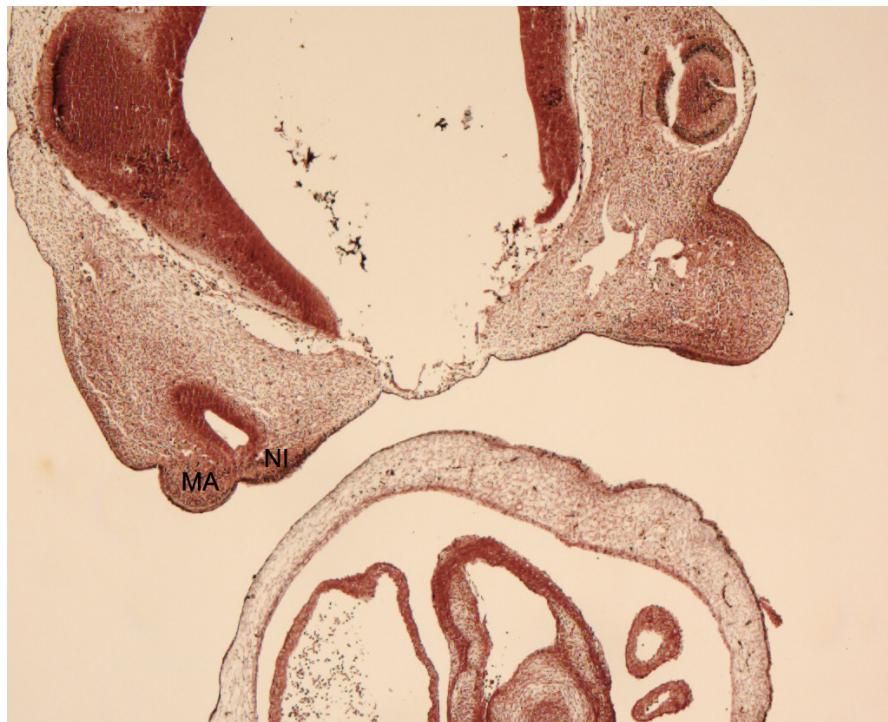


Figura 27. BOT Estadio 16 de la Carnegie

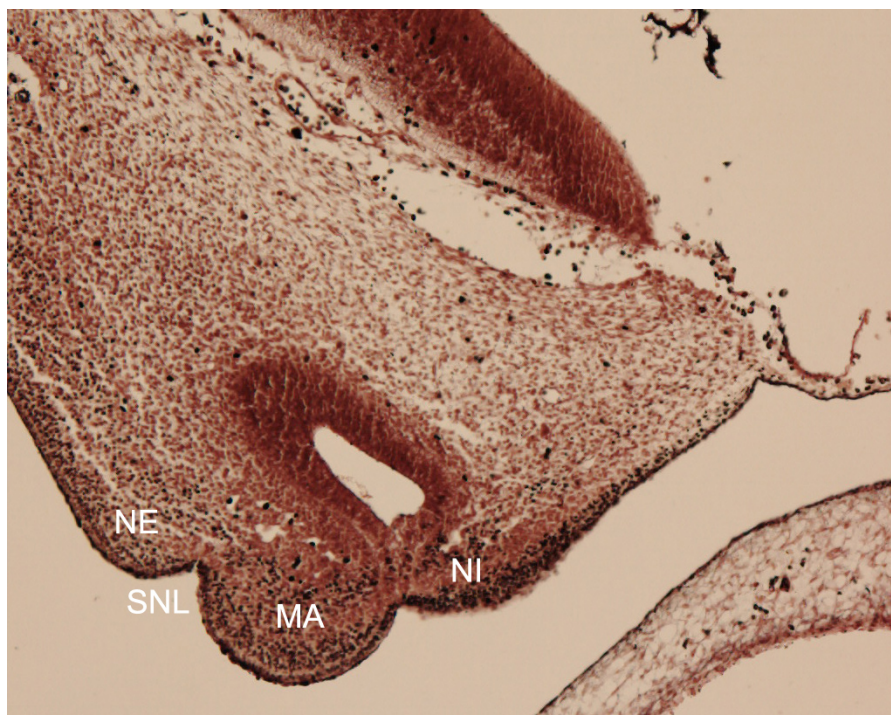


Figura 28. BOT Estadio 16 de la Carnegie



Figura 29. MAR Estadío 16 de la Carnegie



Figura 30. MAR Estadío 16 de la Carnegie



Figura 31. MAR Estadio 16 de la Carnegie

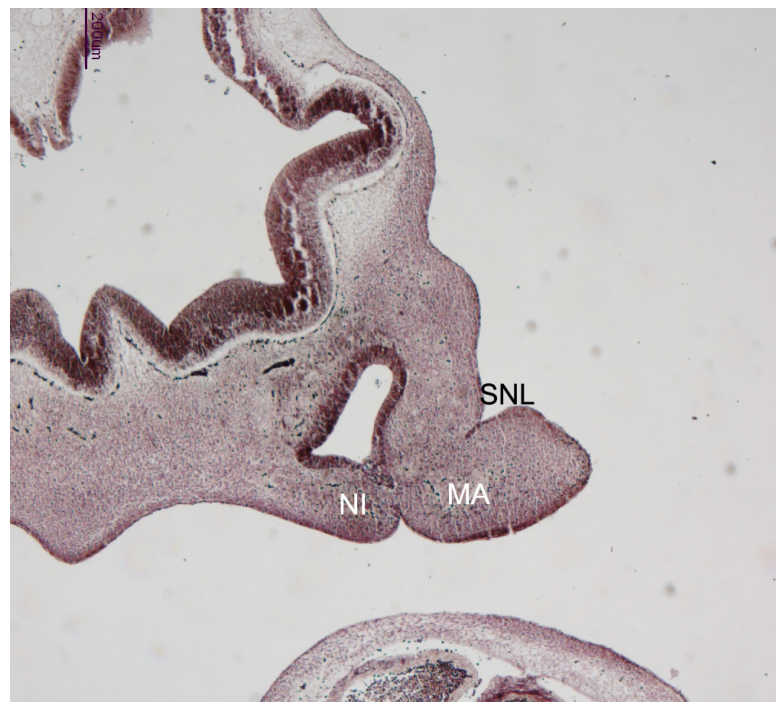


Figura 32. MAR Estadio 16 de la Carnegie

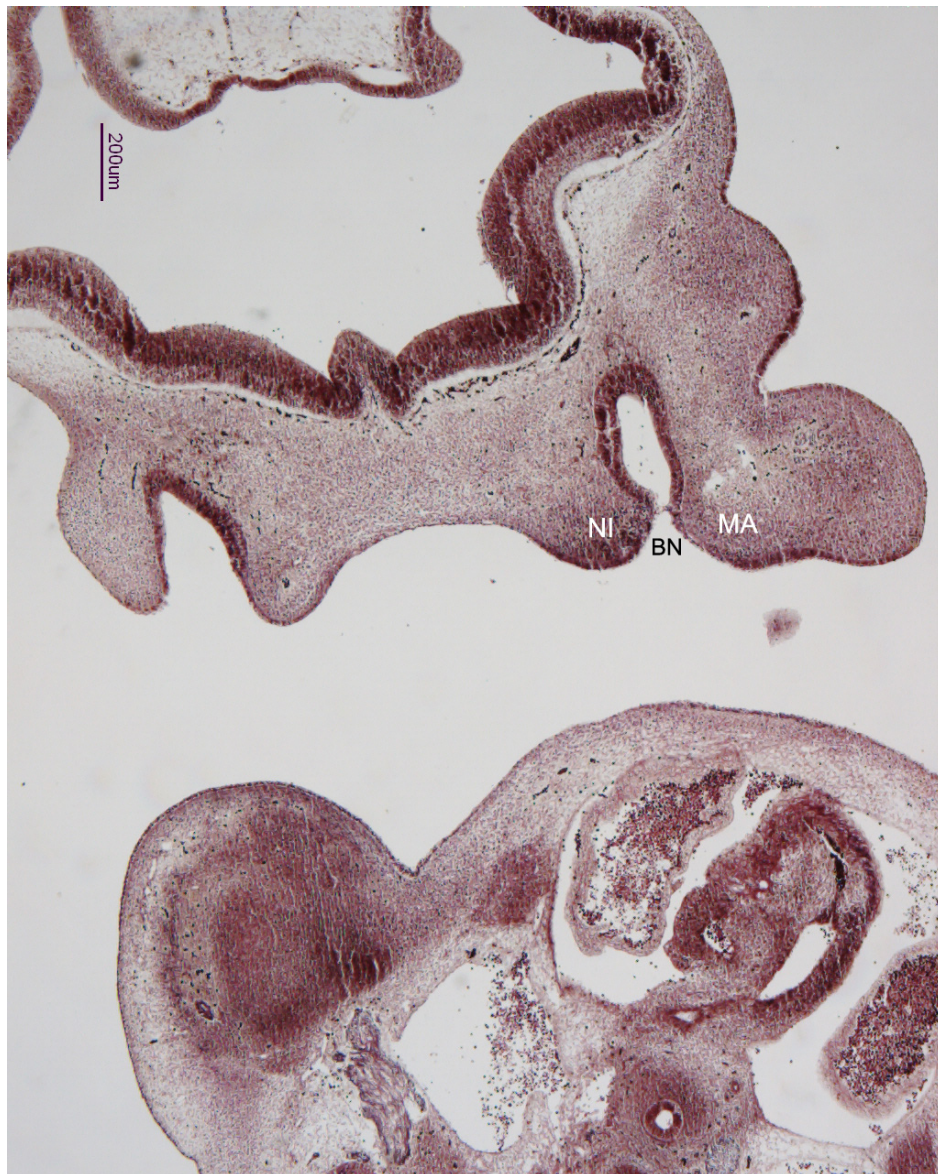


Figura 33. MAR Estadio 16 de la Carnegie

Estadio 18 de la Carnegie.

Para describir del estadio 18 de la clasificación de Carnegie, hemos seleccionado tres embriones de 15, 16 y 18mm. que abarcan las fases evolutivas del paladar durante este periodo, ya que existen diferencias significativas entre el principio y el final del mismo. Todos los embriones están seccionados transversalmente, aunque a nivel del polo cefálico, por la flexión ventral del mismo, corresponde a cortes frontales.

Al principio del estadio 18, embrión NO de 15mm, figuras 34 a 41, el paladar primario (A1) figuras 35, 36, 37, 38, y 39 está constituido por fusión del mesodermo de los mamelones maxilar (MA) y nasal interno (NI) habiendo desaparecido ya el cordón epitelial que en estadios anteriores se formaba por aposición del epitelio superficial de ambas estructuras.

En secciones anteriores, fig. 34 se observa en el lado derecho la apertura que la fosa olfativa tiene en el techo del estomodeo. La citada fosa está delimitada a este nivel entre el mamelón nasal externo y nasal interno. Su epitelio se encuentra engrosado y asimétrico, siendo la hoja externa del mismo recta y con inclinación caudocraneal y mediolateral, mientras que la interna posee dos segmentos, uno caudal de orientación parasagital y otra craneal marcadamente oblicuo hacia arriba y hacia afuera. Es significativa la relación que presentan a este nivel la fosa olfativa y los

mamelones nasales externo e interno con la cavidad pericárdica. En cortes dorsales (fig. 35 y 36) y debido a la oblicuidad de los cortes, se observa en el lado derecho la fosa olfativa aislada del estomodeo por la fusión del material mesodérmico contenido en los mamelones maxilar (MA) y nasal interno (NI). La bolsa olfativa derecha ofrece al corte una imagen triangular de base medial y vértice lateral. En el mesoderma suprayacente a la misma se distinguen multitud de fibras nerviosas que corresponden al esbozo de la fila olfatoria (NO). (fig. 36). La fosa olfativa izquierda (fig. 35 y 36) queda delimitada por los mamelones nasal interno y nasal externo, y está abierta al techo del estomodeo por un orificio que representa a la narina.

En cortes posteriores fig. 37 y 38, se observa al paladar primario (A1) constituido por el mesoderma de los mamelones maxilar y nasal interno. Las fosas olfativas en ambos lados mantienen la forma triangular antes descrita pudiendo observarse el esbozo del bulbo olfativo y la fila olfatoria (NO) en el mesénquima suprayacente. Estructuras estas últimas situadas subyacentes a las vesículas telencefálicas. En el lado derecho se visualiza con claridad el surco lacrimonasal, cuyo epitelio se invagina entre el mesénquima del mamelón nasal externo y maxilar para formar un cordón epitelial, esbozo del conducto lacrimonasal (LN).

Como puede observarse a partir de la figura 38, el paladar primario comienza a relacionarse caudalmente con el extremo

anterior del mamelón mandibular (MM), mientras que la porción anterior del paladar primario, fig. 37,36, 35, lo hace aún con la cavidad pericárdica. En cortes dorsales, fig. 39, 40 y 41, se interpone entre la fosa olfativa y el estomodeo la membrana buconasal o membrana de Horsteter (BN), membrana extremadamente delgada formada por aposición epitelial (fig. 40) y que cierra en esta fase la coana primitiva.

En los embriones de 16 y 18mm. Fig. 42 a 52, el paladar primario se sitúa suprayacente en todo su trayecto al esbozo mandibular, lo que indica un importante crecimiento en sentido ventral de este último. Por otra parte, las narinas han cambiado de orientación desembocando en el plano frontal y no en el techo del estomodeo. Otro acontecimiento importante que sucede en este periodo es la aparición de los procesos palatinos verticales (esbozo del paladar secundario), cuya primera manifestación la observamos en embriones de 16mm.

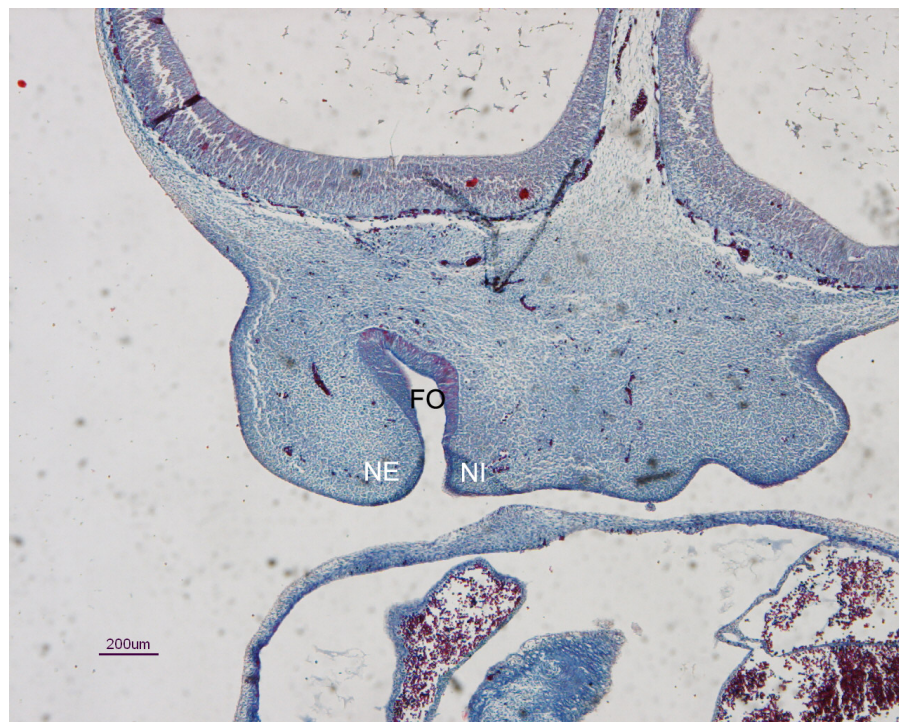


Figura 34. NO Estadío 18 de la Carnegie



Figura 35. NO Estadío 18 de la Carnegie

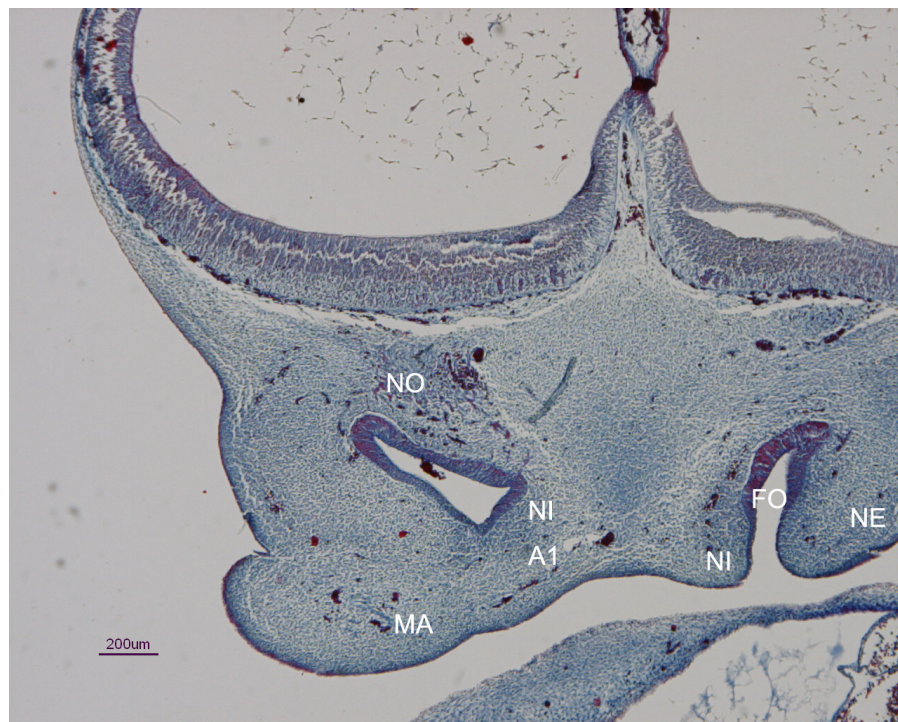


Figura 36. NO Estadío 18 de la Carnegie



Figura 37. NO Estadío 18 de la Carnegie

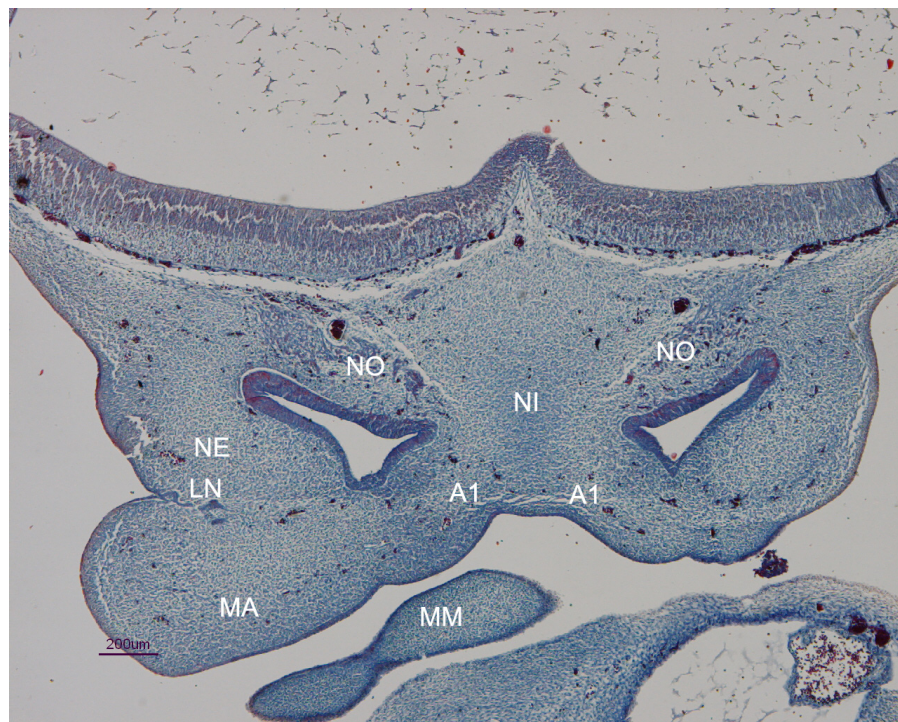


Figura 38. NO Estadio 18 de la Carnegie

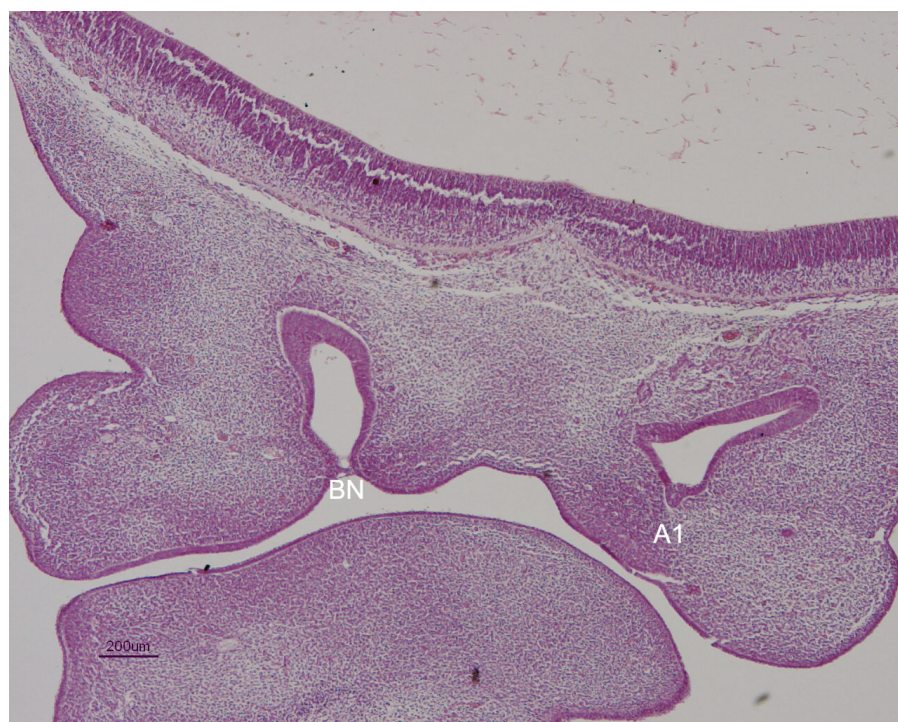


Figura 39. NO Estadio 18 de la Carnegie



Figura 40. NO Estadio 18 de la Carnegie



Figura 41. NO Estadio 18 de la Carnegie

En el embrión CIV 2 de 16mm. Figuras 42 a 47, se observan las narinas en el extremo anterior, cuya luz esta cerrada por un tapón mucoso. En un plano subyacente a ellas se observa la hendidura bucal y subyacente a ella, el extremo anterior del mamelón mandibular (MM) en cuyo interior se encuentra el cartílago de Meckel (CM) muy próximo a la línea media. En cortes dorsales (fig.43) se visualiza el paladar primario (A1) interpuesto entre las fosas olfativas y el estomodeo. En la línea media y rodeando la porción craneal de las fosas olfativas el mesénquima se condensa para constituir la cápsula nasal (CN). En las fosas olfativas comienzan a desarrollarse por evaginaciones epiteliales de su hoja externa los esbozos de los meatos inferior y medio. Muy próximo al extremo externo del esbozo del meato inferior, se contempla un cordón epitelial sólido, esbozo del conducto lacrimonasal. A este nivel y subyacente al paladar primario, se sitúa el extremo anterior del esbozo lingual y en posición caudal a él el mamelón mandibular, que contiene ambos cartílagos de Meckel y las fibras del músculo milohioideo. En cortes dorsales, (fig. 44) se observa al paladar primario A1 fusionado con el esbozo del septo nasal (SN) con los cartílagos cómplexos (VN). En el suelo de la boca el esbozo lingual se relaciona estrechamente con la cara bucal del paladar primario y comienza a diferenciarse su musculatura intrínseca. También son visibles los cartílagos de Meckel (CM), músculo milohioideo (MI) y los músculos geniogloso (GI) y genihioideo (GH). En dirección dorsal, figura 45, se produce la apertura de las fosas olfativas en el estomodeo mediante las coanas primitivas. A este

nivel comienzan a observarse los proceso palatinos verticales (PV) situados laterales al esbozo lingual. En el suelo de la boca, sigue estando presente los cartílagos de Meckel, los músculos geniogloso y milohioideo, siendo especialmente llamativo el ganglio submandibular (GSM) y el nervio lingual (L); también son visibles los nervios dentario (D) y maxilar (Mx).

A nivel de la base de la lengua (fig. 46) los procesos palatinos verticales (PV) siguen relacionados con las caras laterales de la lengua y mantienen una inclinación caudomedial adaptándose a la superficie de la estructura lingual. A este nivel es llamativo el grado de desarrollo que tienen las estructuras del suelo de la boca así como los nervios hipogloso (XII), lingual (L), dentario (D) maxilar (Mx), bucal (Bu) y glándula submandibular (GL).

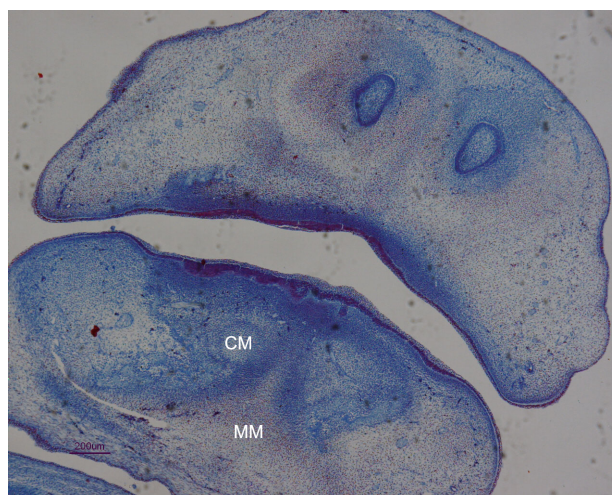


Figura 42. CIV2 Estadío 18 de la Carnegie

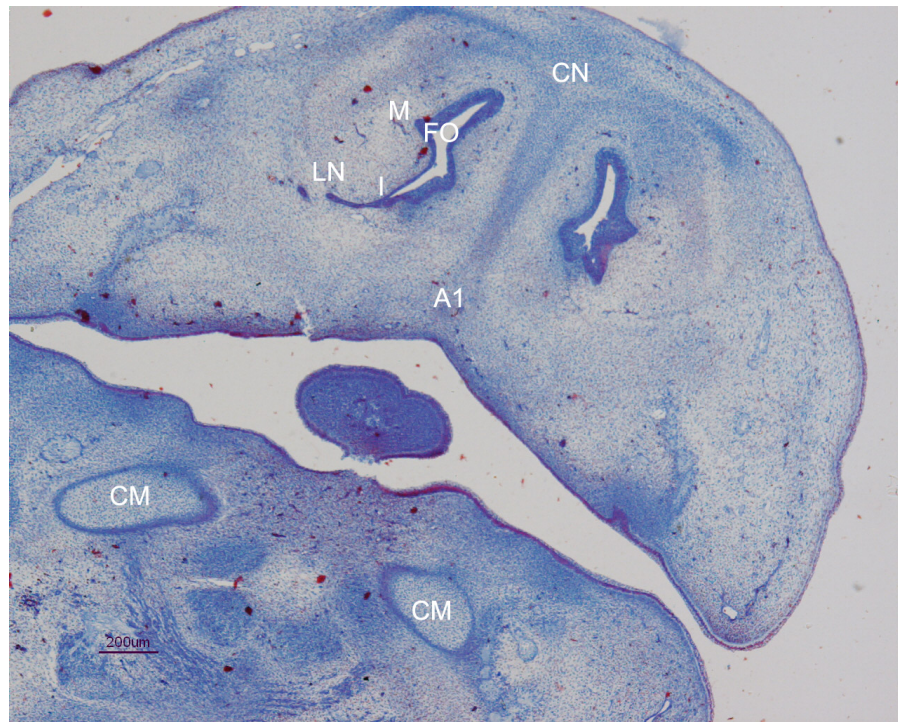


Figura 43. CIV2 Estadio 18 de la Carnegie.

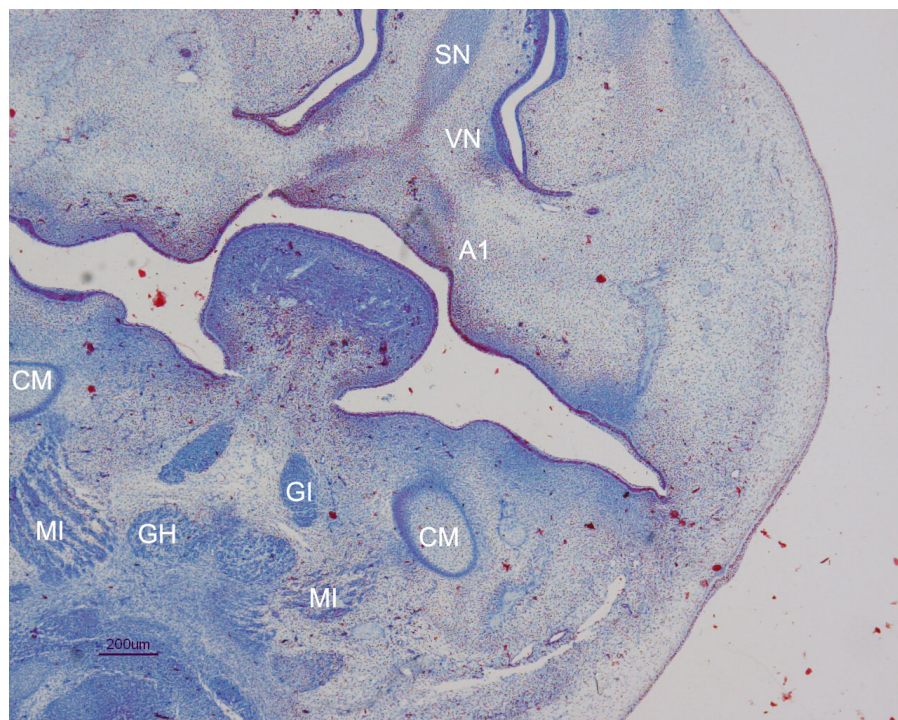


Figura 44. CIV2 Estadio 18 de la Carnegie.

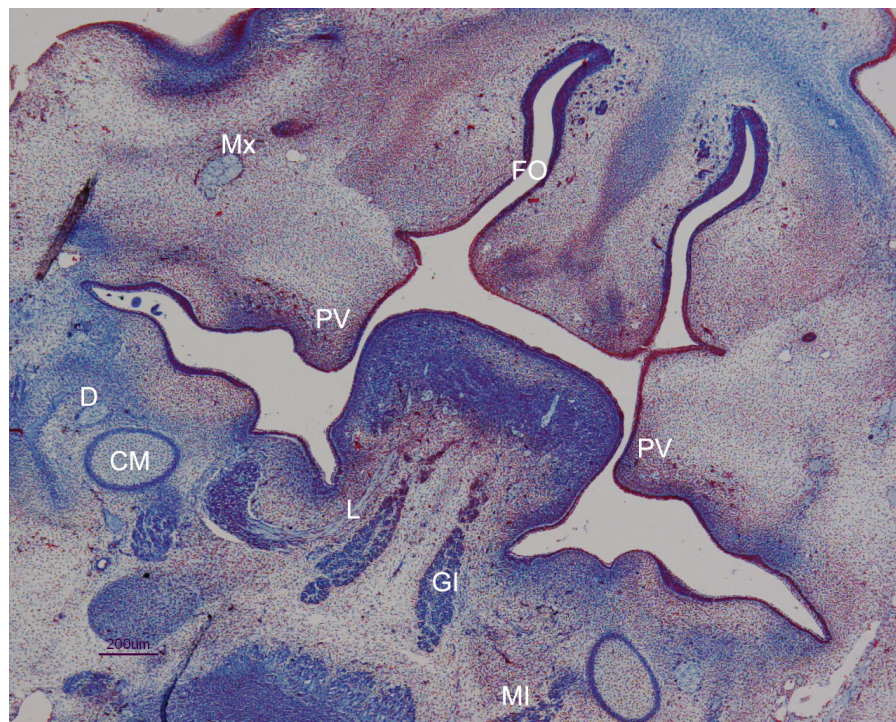


Figura 45. CIV2 Estadio 18 de la Carnegie.

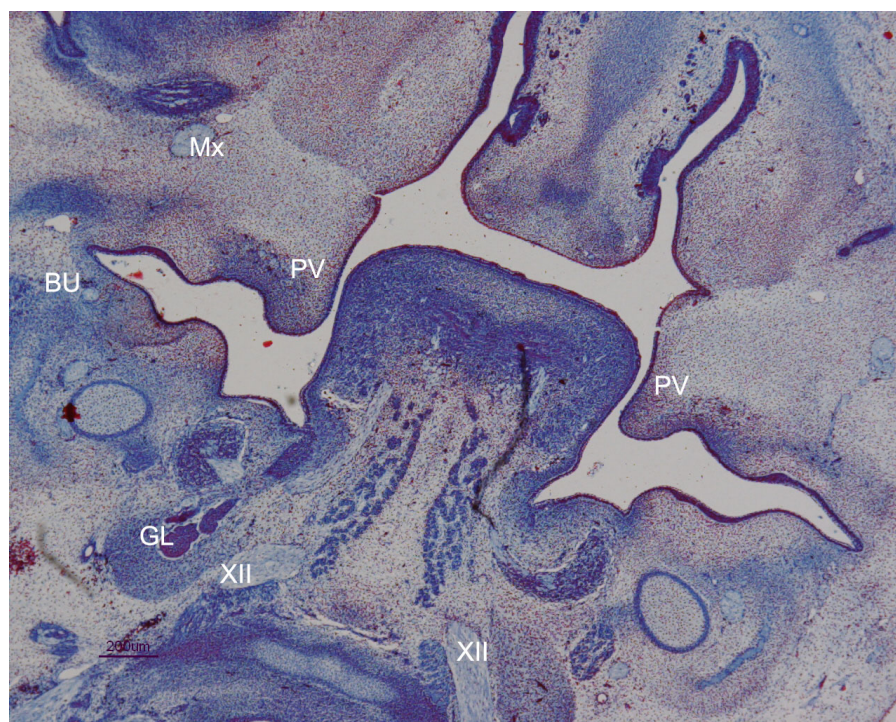


Figura 46. CIV2 Estadio 18 de la Carnegie.

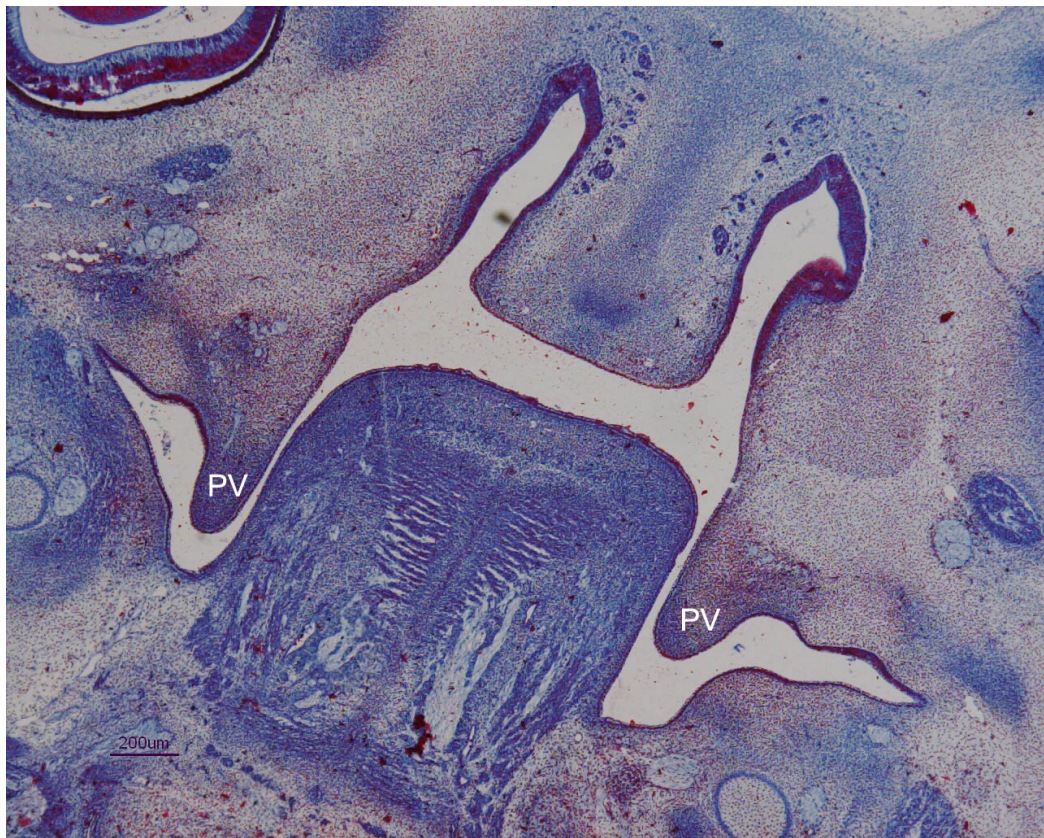


Figura 47. CIV2 Estadio 18 de la Carnegie.

En la fase final del estadio 18 embrión CIV 1 de 18mm, figuras 48 a 51 se mantienen las características estructurales y de posicionamiento y relaciones del paladar primario y secundario. En la pared lateral del septo nasal, se forma por invaginación epitelial fig. 50 y 51 el órgano vómeronasal, al que llegan fibras nerviosas procedentes de la fila olfatoria (fig. 51).

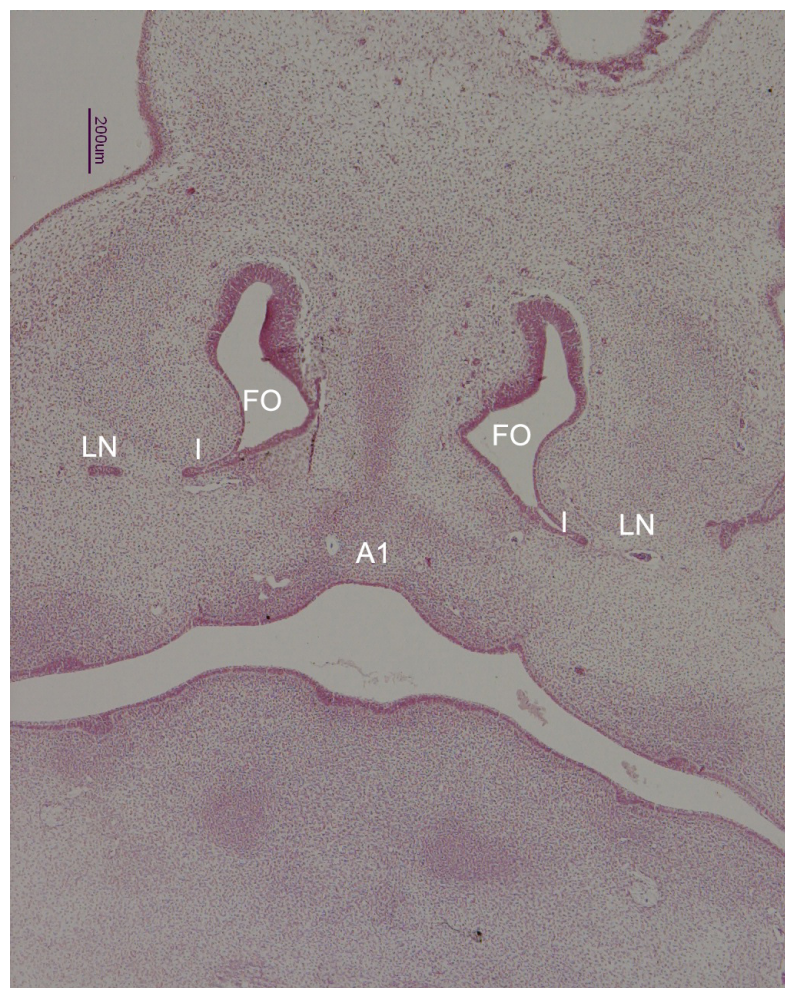


Figura 48. CIV1 Estadio 18 de la Carnegie.

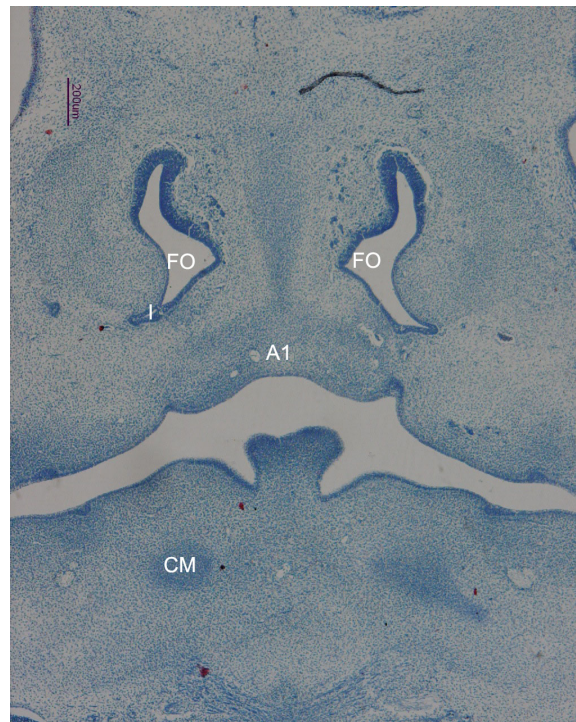


Figura 49. CIV1 Estadio 18 de la Carnegie.

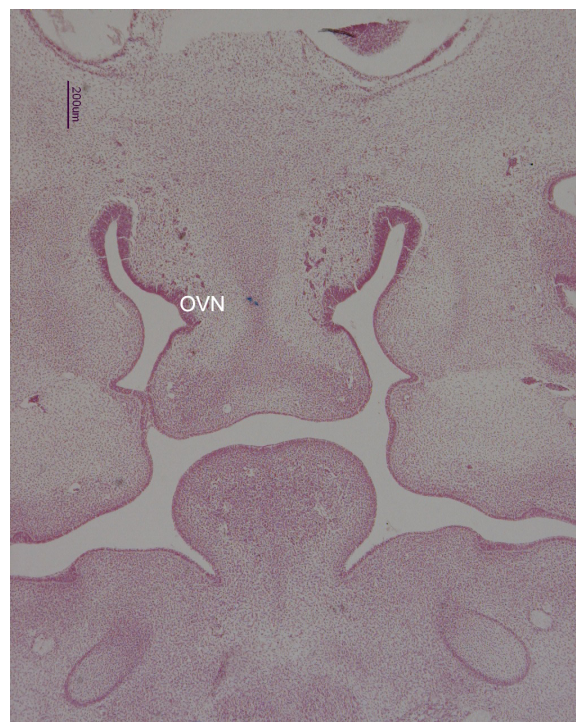


Figura 50. CIV1 Estadio 18 de la Carnegie.

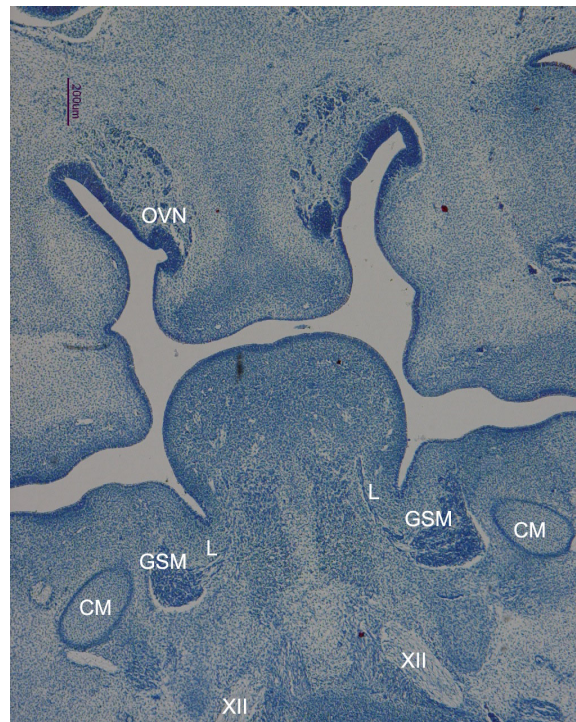


Figura 51. CIV1 Estadio 18 de la Carnegie.

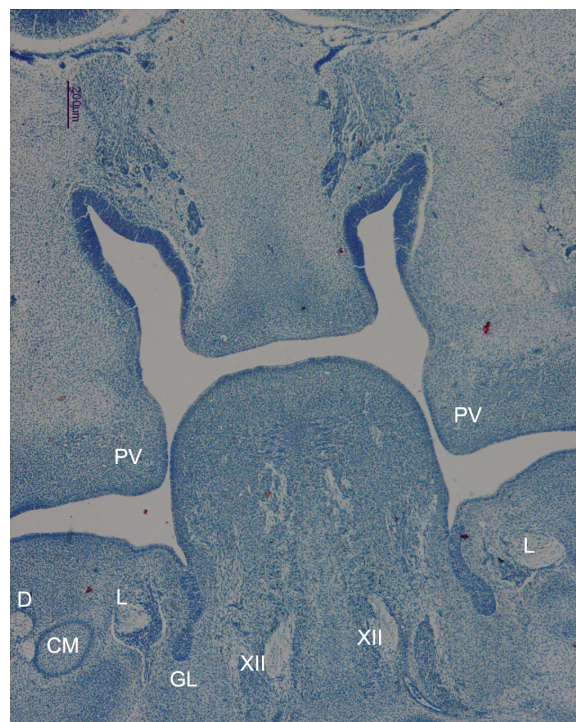


Figura 52. CIV1 Estadio 18 de la Carnegie.

Estadio 20 de la Carnegie.

Durante esta fase del periodo embrionario, el paladar primario comienza a osificarse por un mecanismo directo y mantiene una posición adelantada con relación a la posición del esbozo mandibular, pese que este último ha experimentado un notable crecimiento en sentido anterior. Siguen manteniéndose las coanas primitivas y los procesos palatinos han crecido en extensión y continúan orientados verticalmente en íntimo contacto con las facetas laterales del esbozo lingual. Las narinas, de orientación fronto basal, siguen cerradas por un tapón mucoso. Para la descripción de los acontecimientos existentes en este periodo, hemos seleccionado los embriones PR19 de 19mm figuras 53 a 56, CAS20 de 20mm, figuras 57 a 64 y NO2, de 21mm, figuras 65 a 70.

El embrión PR19 se encuentra seccionado sagitalmente y en él queda patente la orientación frontal de las narinas (NA), figura 53. El paladar primario (A1) posee un núcleo de osificación directa muy evidente en su porción lateral, (fig. 53), reduciendo su tamaño hacia la línea media, (fig. 54).

En esta fase comienza a constituirse el surco vestibular (VB), (fig. 53, 54, 55 y 56), que al profundizar en dirección ascendente empieza a separar el labio superior del paladar. El esbozo mandibular (EM) se sitúa subyacente y dorsal al paladar primario;

en él se distingue el cartílago de Meckel (CM) y las trabéculas de osificación directa que van configurando la mandíbula. También a este nivel se esboza el surco vestibular inferior para separar y formar el labio inferior.

Los procesos palatinos (PV) a nivel de la implantación en el proceso maxilar (fig. 53, 54), separan las porciones externas de la fosa nasal (FN) de la cavidad bucal (CB) y hacia la línea media continúa un amplia comunicación entre fosa nasal y cavidad bucal, (fig 55 y 56).

El esbozo lingual se proyecta hacia arriba en la fosa nasal a nivel de los procesos palatinos verticales (fig.54), de tal forma que su extremo anterior (fig 56)., se localiza suprayacente a la porción posterior del paladar primario (A1).

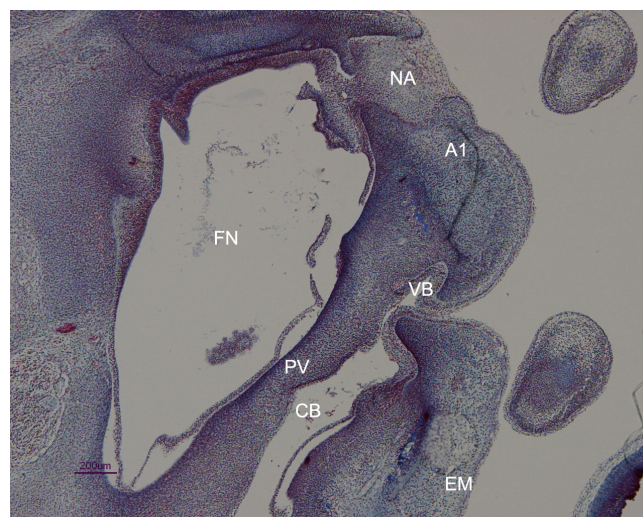


Figura 53. PR19 Estadio 20 de la Carnegie.



Figura 54. PR19 Estadío 20 de la Carnegie.



Figura 55. PR19 Estadío 20 de la Carnegie.

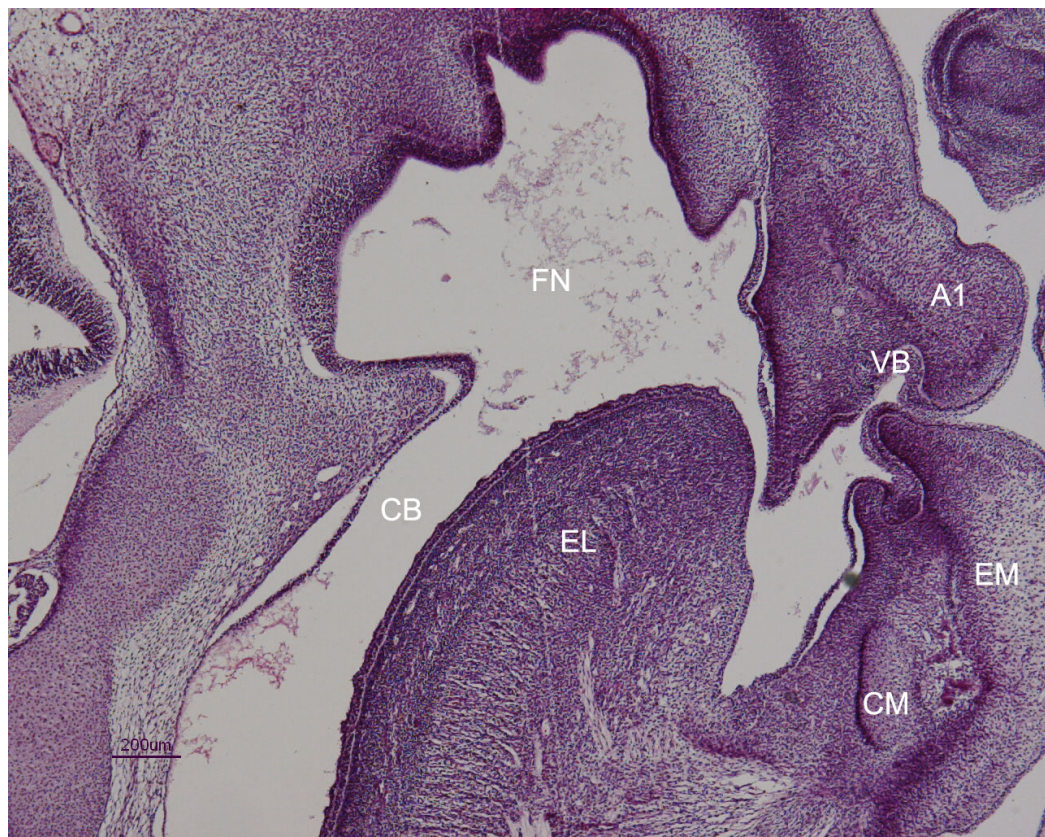


Figura 56. PR19 Estadio 20 de la Carnegie.

En el embrión CAS20 de 20mm, seccionado frontalmente, se mantiene la posición adelantada del paladar primario con relación al esbozo mandibular. En los cortes anteriores se observan (fig 57) las narinas cerradas por tapón mucoso y las fosas nasales separadas en la línea media por el septum nasal (SN) y rodeadas externamente por la cápsula nasal (CN). Hacia atrás (fig 58), se contempla al paladar primario (A1), el surco vestibular (VB), y por debajo de él el esbozo del labio superior en el que pueden visualizarse las fibras del músculo orbicular de los labios. Más hacia atrás, se evidencia la osificación membranosa del paladar primario constituida por dos núcleos de osificación extendidos medialmente que no llegan a contactar en la línea media, ya que se interpone un tejido mesenquimal esbozo de la sutura intermaxilar. A este nivel y suprayacente a los núcleos de osificación del paladar se sitúan las fosas nasales (FN), cuyas paredes laterales poseen las evaginaciones que van a formar los meatos inferior y medio. También observamos el septo nasal (SN) y la cápsula nasal (CN).

En cortes dorsales al paladar primario aparece el esbozo mandibular (EM), (fig. 60 61, 62 y 63) y sobre él el esbozo lingual, (EL). En relación con la cara lateral o laterobasal del esbozo lingual se sitúan los procesos palatinos verticales (PV), en los que observamos a nivel anterior, (fig. 60), las ramificaciones del nervio palatino mayor (PM), y en la zona posterior, (fig. 62 y 63), las fibras del músculo periestafilino externo (PE) penetrando en su mesénquima. En el esbozo mandibular se distingue el cartílago de

Meckel (CM), (fig. 61, 62 y 63) en posición suprayacente y medial a las trabéculas de osificación directa que conforman la cortical externa de la mandíbula. En la zona más anterior (fig. 61) los dos cartílagos de Meckel, contactan con su pericondrio en la línea media; en esta sección se contempla igualmente la desembocadura de ambos conductos de Wharton (W) en la *papilae sublingualis*, y lateral a ellos la desembocadura de la glándula sublingual (SL).

Es patente la gran diferenciación observada en la musculatura lingual, (fig 61, 62 y 63), ya que puede distinguirse perfectamente los músculos geniogloso (GI), Hiogloso (H), transverso lingual (T), y lingual superior (LS).

Por último, a nivel del extremo posterior del cartílago de Meckel (CM), (fig. 64) se establece el contacto entre el pericondrio del cartílago de Meckel y el yunque (Y), no existiendo cavidad articular entre ambos. Alrededor del Cartílago de Meckel se disponen los músculos pterigoideo externo (PE), pterigoideo interno (PI) y músculo masetero (MS), este último lateral a la trabécula de osificación de la cara externa de la rama de la mandíbula. Por fuera del músculo masetero, se sitúa la bifurcación del conducto de Stenon. En íntima relación con el cartílago de Meckel observamos al nervio lingual (L) relacionado con la cara interna del citado cartílago y al nervio dentario inferior (D), en contacto con la faceta externa y con la trabécula de osificación directa de la rama mandibular.

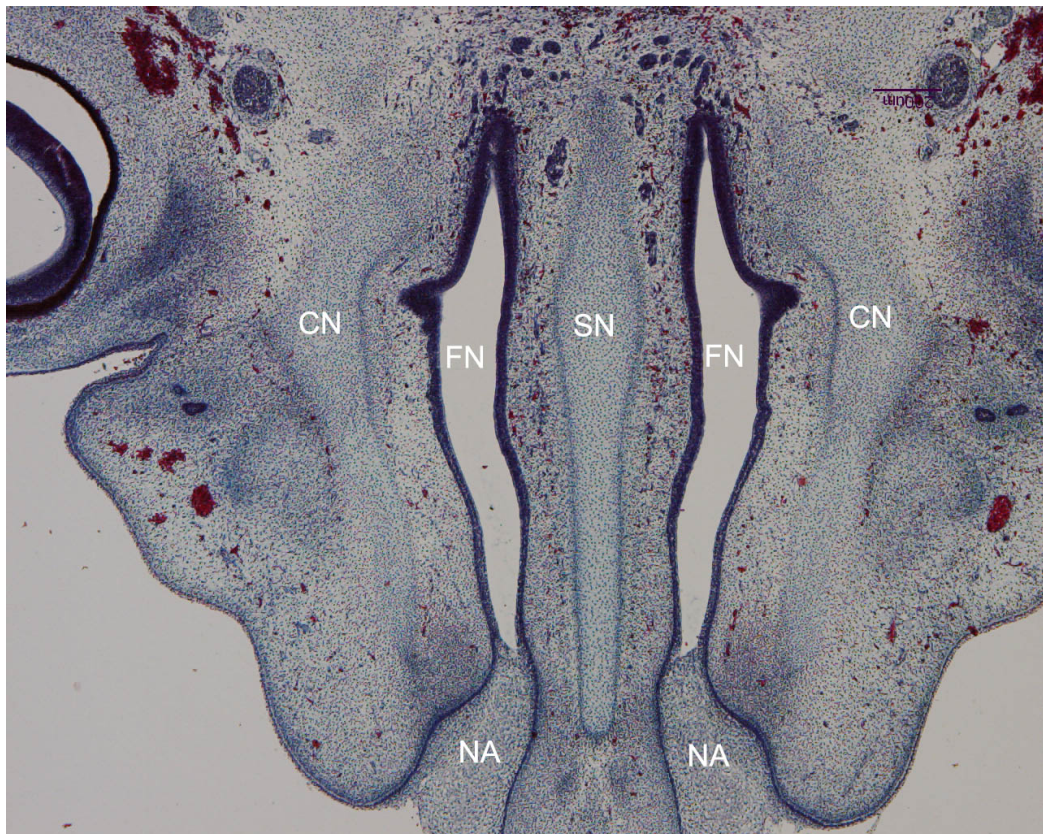


Figura 57. CAS20 Estadio 20 de la Carnegie.

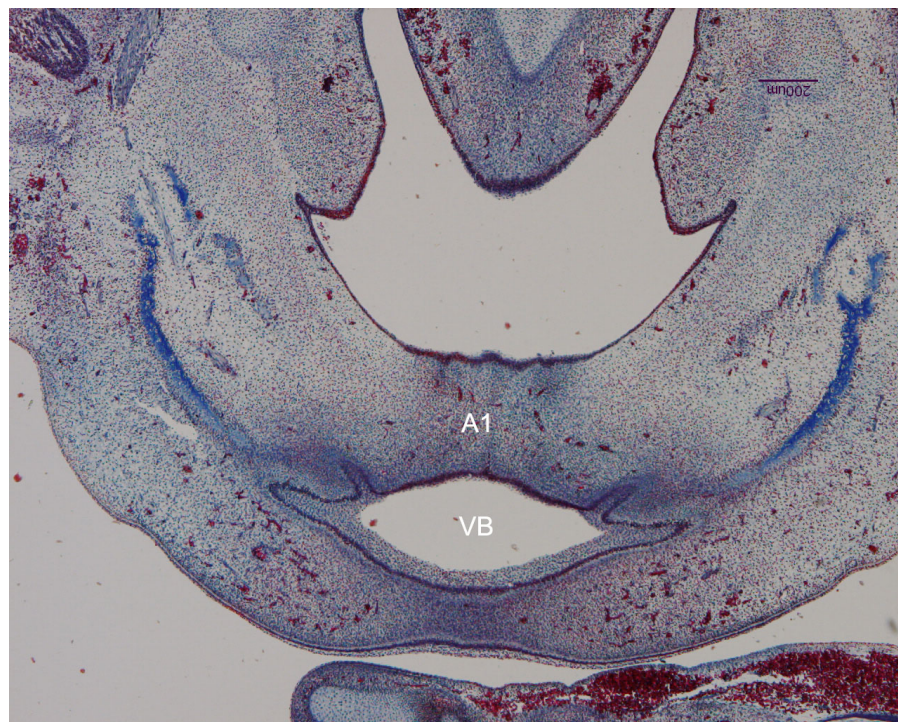


Figura 58. PR19 Estadío 20 de la Carnegie.

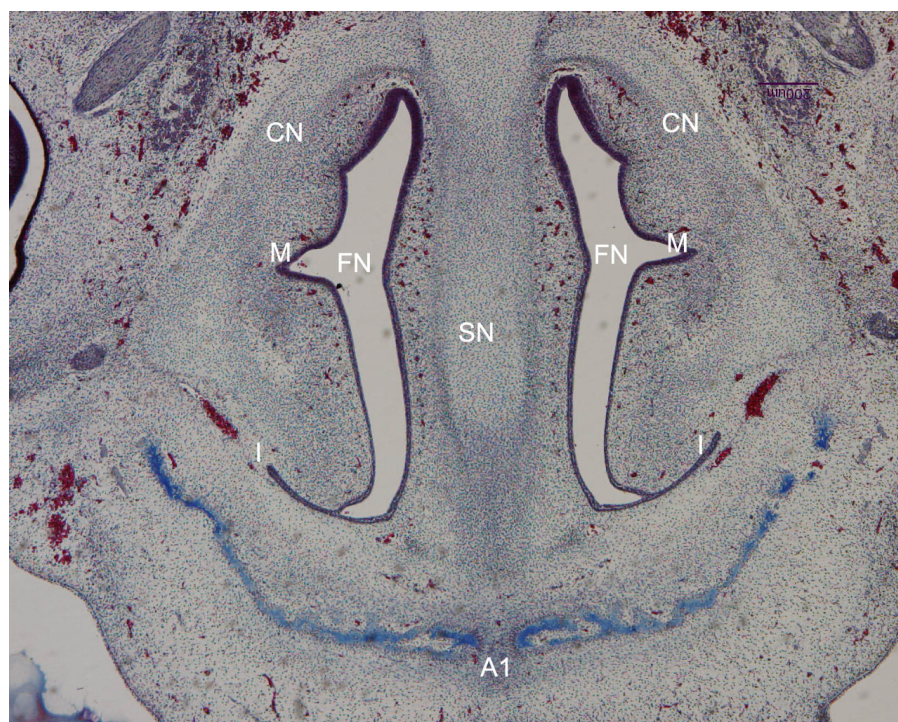


Figura 59. PR19 Estadío 20 de la Carnegie.

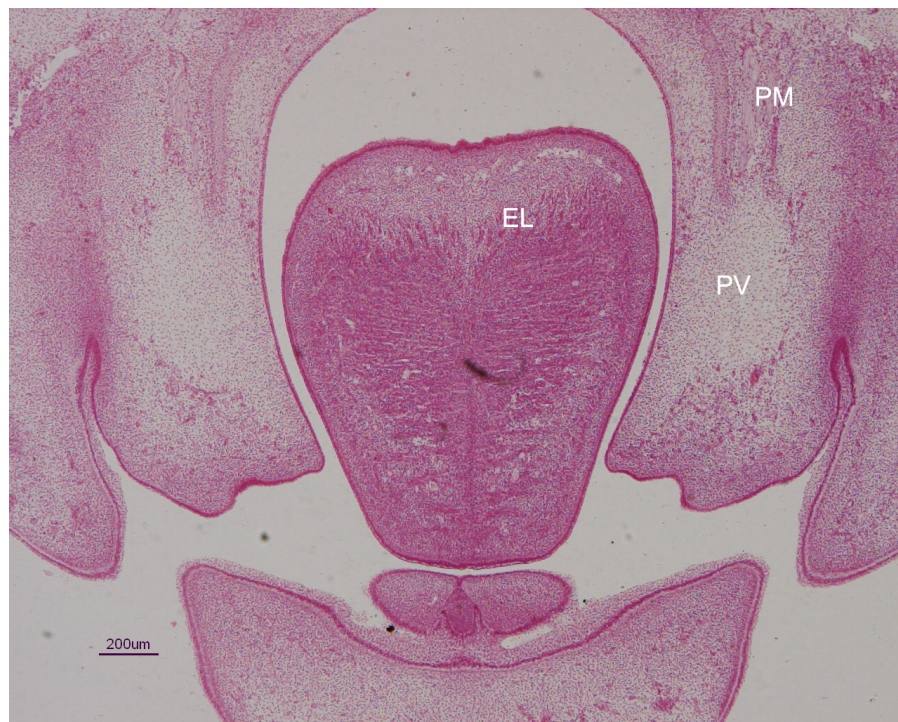


Figura 60. CAS Estadio 20 de la Carnegie.

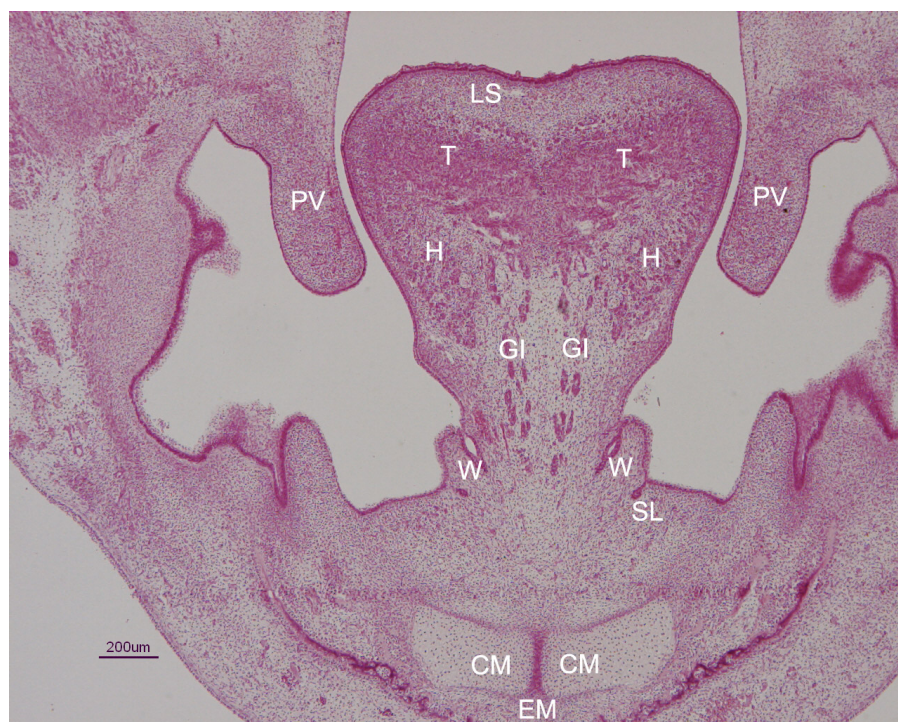


Figura 61. CAS Estadio 20 de la Carnegie.

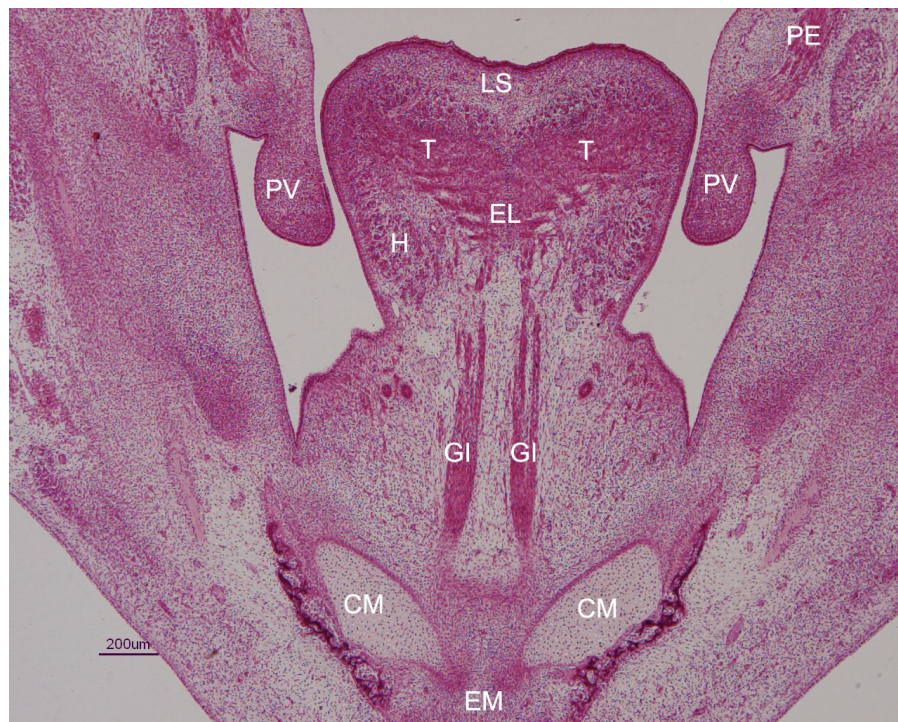


Figura 62. CAS Estadio 20 de la Carnegie.



Figura 63. CAS Estadio 20 de la Carnegie.



Figura 64. CAS Estadio 20 de la Carnegie.

En el embrión NO2 de 21 mm, (fig. 65, 66, 67 68, 69 y 70), correspondiente al final del estadio 20 de la Carnegie, se mantienen la mismas relaciones y estructuras comentadas en el embrión anterior, destacando la presencia del núcleo de osificación directo del maxilar localizado fig. 66, 67, 68 en la porción anterior y alejado aún de los procesos palatinos verticales.

El extremo posterior del cartílago de Meckel (fig. 70), esbozo del hueso martillo del oído medio, contacta con el esbozo del yunque y, tal como sucedió en el embrión de 20 mm, no hay el menor vestigio de cavidad articular.

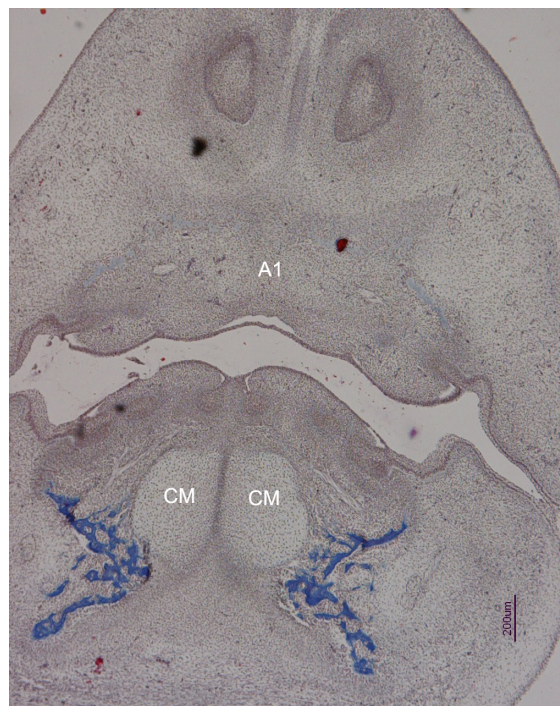


Figura 65. NO2 Estadio 20 de la Carnegie.

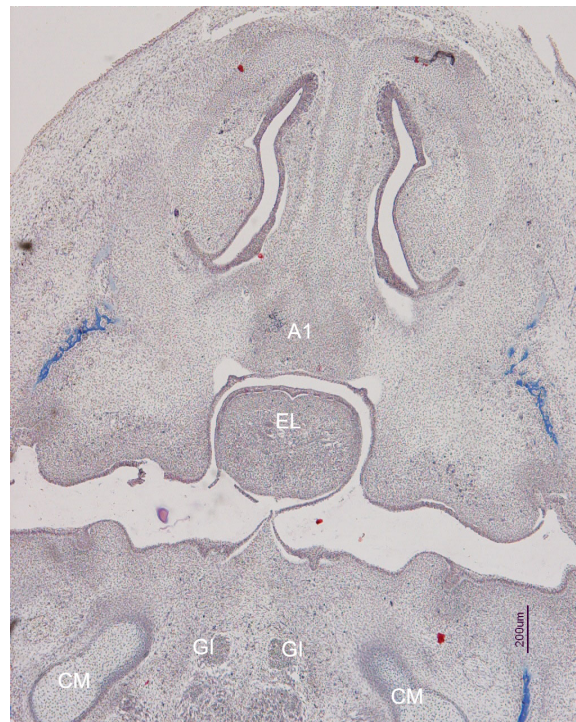


Figura 66. NO2 Estadio 20 de la Carnegie.

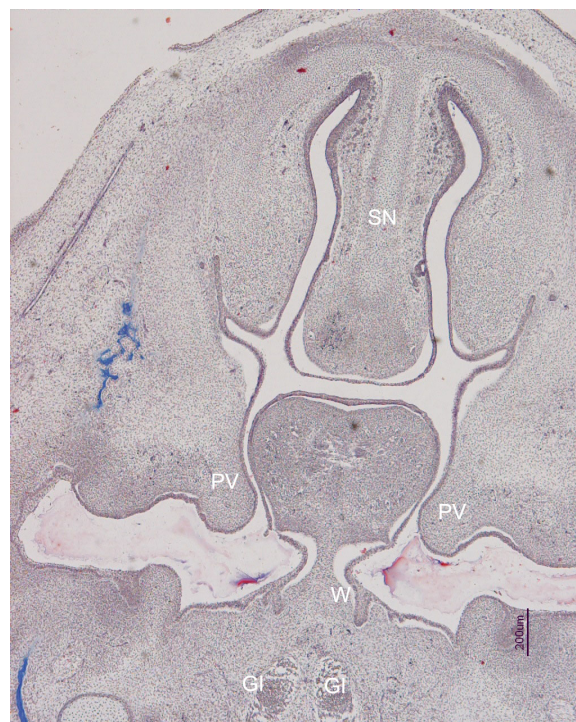


Figura 67. NO2 Estadio 20 de la Carnegie.

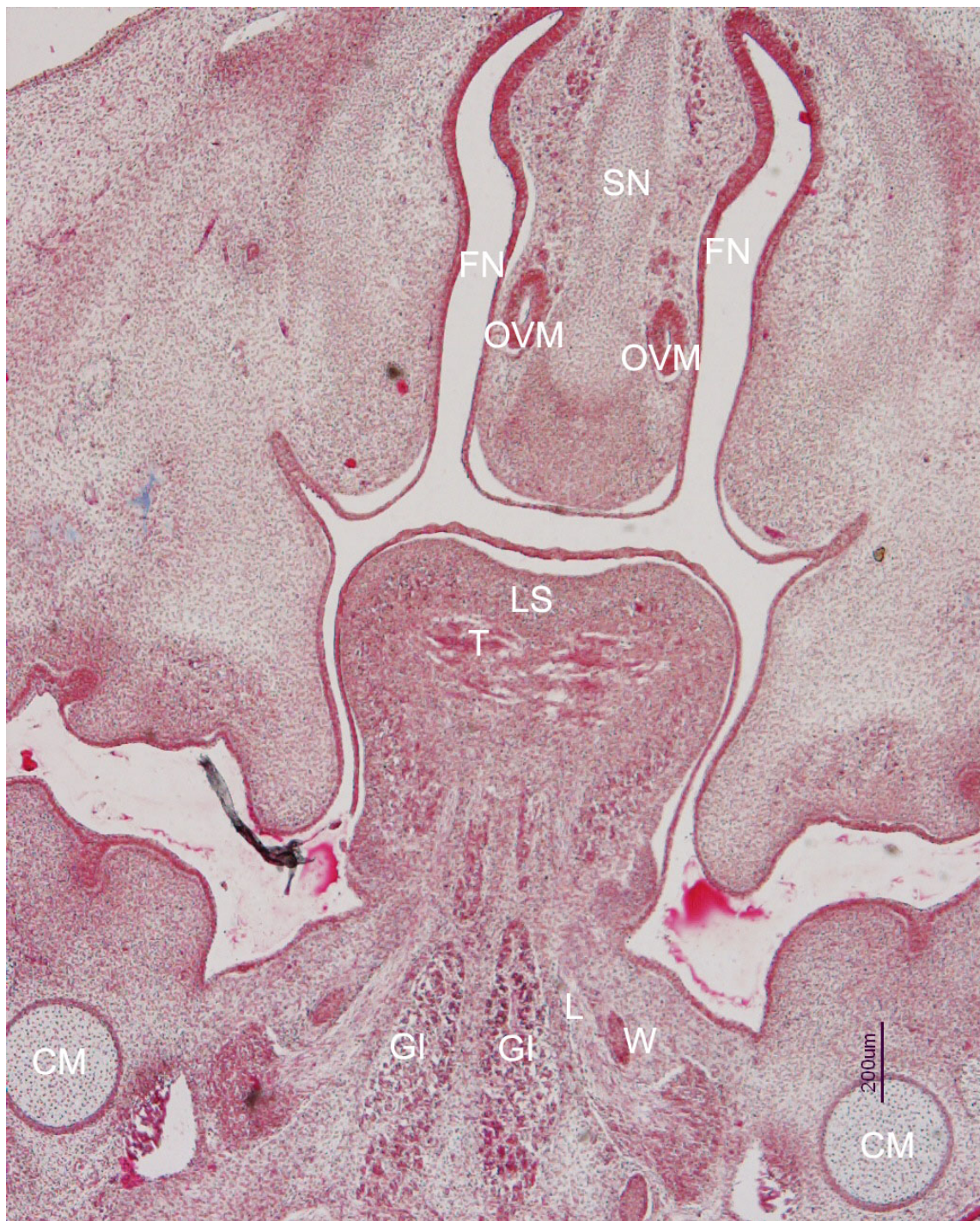


Figura 68. NO2 Estadio 20 de la Carnegie.

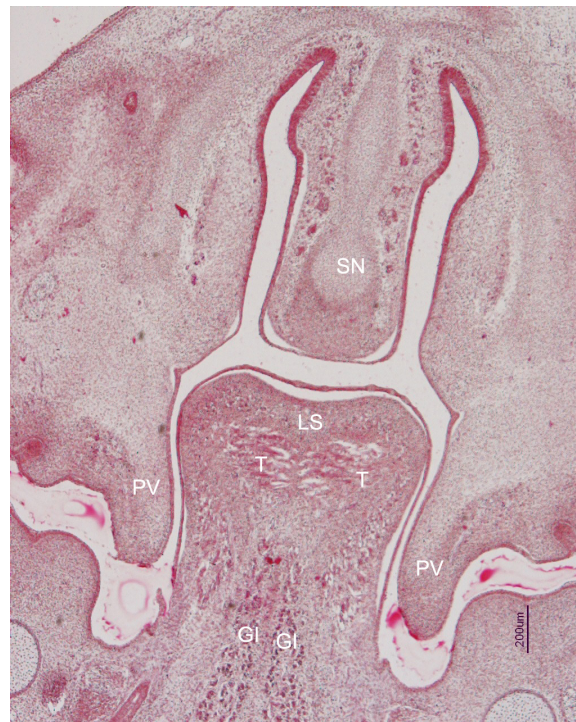


Figura 69. NO2 Estadio 20 de la Carnegie.



Figura 70. NO2 Estadio 20 de la Carnegie.

Estadio 21 de la Carnegie.

En este estadio la situación no ha variado en cuanto al desarrollo del paladar primario y secundario. La mandíbula está en posición retruída con relación al paladar primario, y los procesos palatinos mantienen su orientación vertical en estrecha relación con la cara laterobasal de la lengua. Se mantiene la coana primitiva y la posición de la lengua con relación a los procesos palatinos verticales, de tal manera que el dorso lingual se localiza suprayacente a la base de implantación de los mismos.

El esbozo mandibular y lingual muestran el mismo grado de maduración y evolución que en el estadio anterior, siendo significativa también la diferenciación de la musculatura intrínseca y extrínseca de la lengua. Como representante de este estadio, hemos seleccionado el embrión GV7 de 22m de longitud, cortado en secciones sagitales, (figuras 71, 72, y 73).

En las secciones que afectan a la línea media, (fig 71), se observa al paladar primario (A1) y suprayacente a él, la narina (NA) cerrada por el tapón mucoso. Subyacente y dorsal al paladar primario se observa el esbozo mandibular (EM) y en él al esbozo lingual (EL), cuyo dorso protruye y se aproxima al septo nasal.

En secciones laterales (fig.72), comienza a seccionarse el proceso palatino vertical y el esbozo lingual, que a este nivel se

sitúa suprayacente al citado proceso, ya que la cara laterobasal del esbozo lingual sigue relacionada directamente con la superficie lingual del proceso palatino vertical. A este nivel, se contempla la comunicación entre fosa nasal y cavidad oral, comunicación que se sitúa suprayacente al esbozo lingual conformando la coana primitiva. En el esbozo mandibular se sitúa el cartílago de Meckel, que en estos cortes aparece dorsal a la trabécula de osificación directa mandibular. En cortes externos, (fig. 73), se secciona la zona del borde lateral de la lengua invadiendo la fosa nasal y en posición suprayacente al proceso palatino vertical.

En conjunto existe una fuerte flexión de la cabeza reflejada en el contacto que mantiene el esbozo mandibular con la pared anterior del tórax, pared donde se puede ver con nitidez la configuración de los cartílagos costales y la evolución de los músculos propios del tórax (fig. 73).

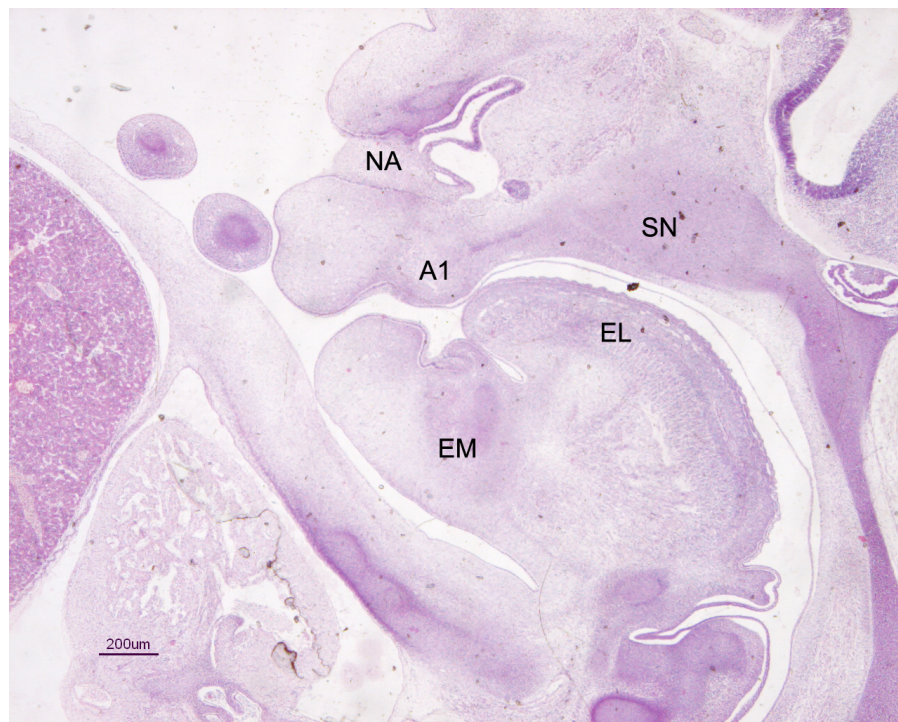


Figura 71. GV7 Estadio 21 de la Carnegie.

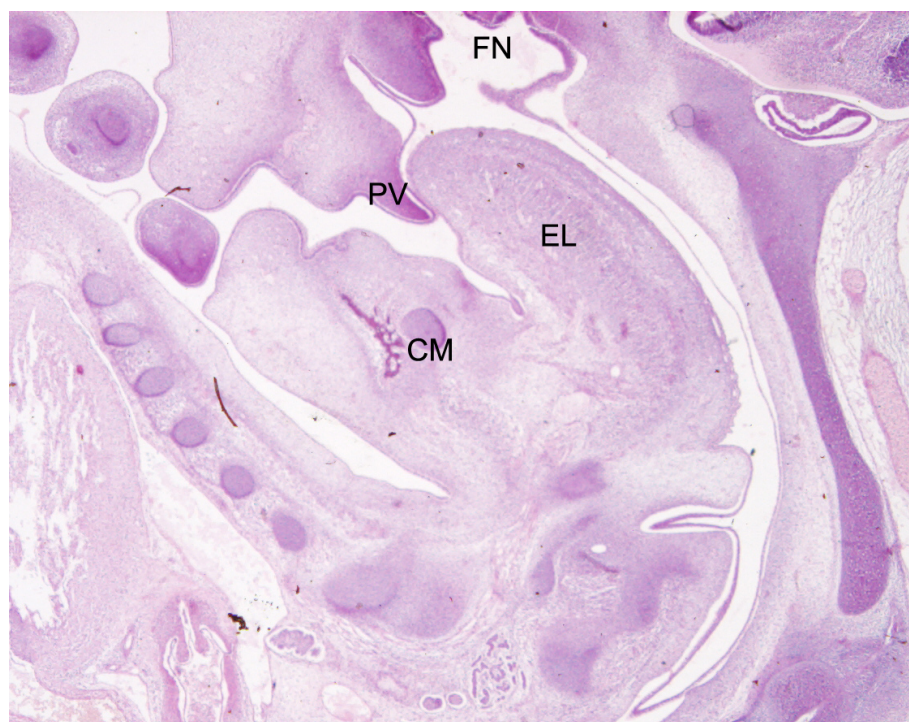


Figura 72. GV7 Estadio 21 de la Carnegie.

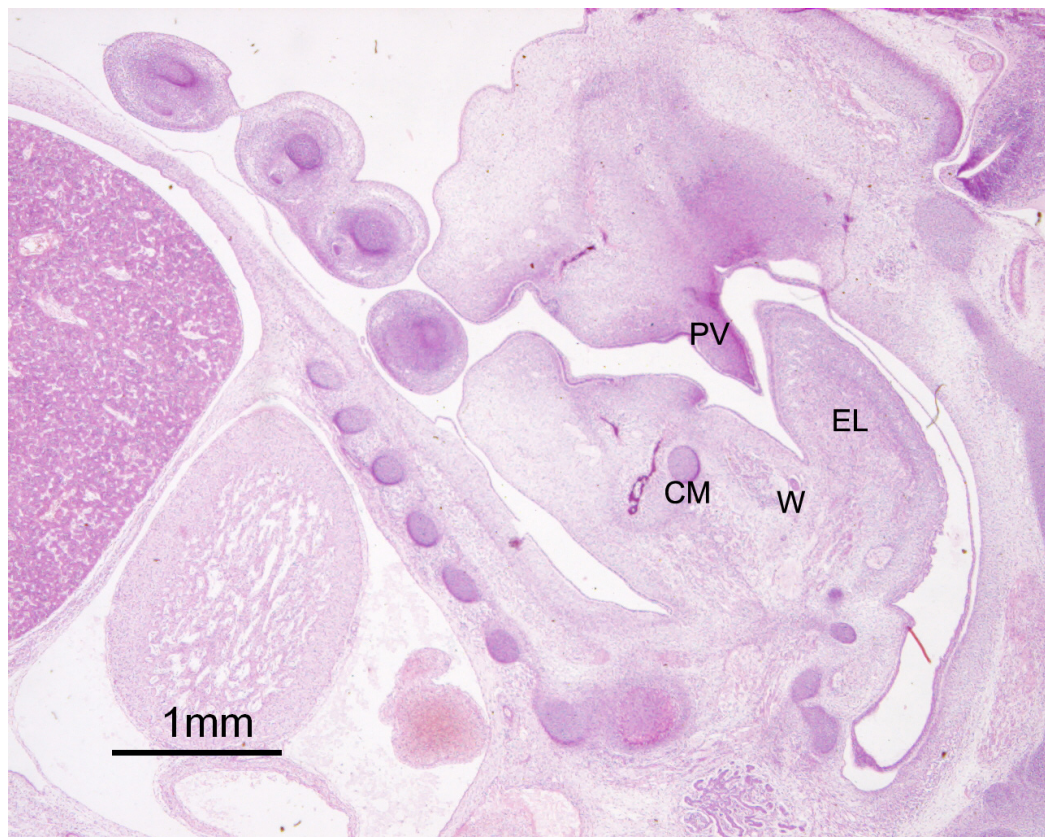


Figura 73. GV7 Estadio 21 de la Carnegie.

Estadio 22 de la Carnegie.

En este estadio el esbozo mandibular presenta una posición algo más adelantada de tal forma que su extremo anterior es subyacente al paladar primario. El paladar secundario continúa abierto ya que los procesos palatinos siguen manteniendo una orientación vertical y relacionada de forma estrecha con el esbozo lingual, esbozo que sigue protruyendo y aproximándose al septo nasal. La coana primitiva persiste y el grado de diferenciación y maduración de los músculos masticatorios y linguales se incrementa. Lo mismo que sucede en estadios anteriores no hay el menor vestigio de articulación temporomandibular, y el único elemento que comienza a configurarse, como en los estadios 20 y 21 es la articulación entre el extremo posterior de cartílago de Meckel, futuro martillo del oído medio, y el esbozo del yunque, articulación que en esta fase no ha desarrollado cavidad articular, por lo que aún no es funcional.

De los embriones correspondientes a este estadio, se ha seleccionado el G14, de 26,5mm de longitud, embrión seccionado frontalmente a nivel del polo cefálico. Figuras 74 a 79.

En cortes anteriores, (fig. 74), se observa al paladar primario (A1) en cuyo interior se visualizan los dos núcleos de osificación que están conformando la premaxila. Craneal al paladar primario, se sitúa el septo nasal que se interpone entre las porciones

anteriores de ambas fosas nasales. Subyacente al paladar primario se sitúa el esbozo mandibular, en el que se pueden apreciar a los cartílagos de Meckel aplicados a la cara interna de las trabéculas de osificación directa que conforman el cuerpo mandibular. En este corte apreciamos al nervio mentoniano (NM) que inicia su salida del esbozo mandibular. Al ser un corte muy anterior, los músculos genihioides y genioglosos aparecen seccionados sobre el músculo milohioides, y muy próximos entre sí ya que la sección se sitúa por detrás de la línea media mandibular. Rodeando superficialmente al esbozo mandibular se pueden distinguir las fibras musculares del músculo cutáneo del cuello (PC). En cortes dorsales, fig. 75 y 76, continúa observándose el paladar primario y su relación con el esbozo lingual, de tal forma que inmediatamente por detrás del paladar primario se establece la comunicación entre la fosa nasal y la cavidad oral a través de la coana primitiva (marcado con asterisco * en la figura 76), que en este corte solo es posible verla en el lado izquierdo, dada la oblicuidad que presentan las secciones de este embrión.

Por detrás de la coana primitiva. (fig. 77 y 78), el esbozo lingual sobrepasa en dirección craneal a los procesos palatinos verticales (PV) y sigue manteniéndose la relación entre la cara laterobasal de la lengua y la faceta lingual del proceso palatino vertical. Es patente el grado de desarrollo de la musculatura intrínseca y extrínseca de la lengua y la evolución de las glándulas salivares submandibular (GL) (fig. 77 y 78) y parótida (GP) (fig. 78).

Finalmente en cortes que afectan al extremo dorsal del cartílago de Meckel se observa la evolución de los huesecillo del oído medio (fig. 79). En situación externa se sitúan el esbozo del martillo, originado a partir del cartílago de Meckel y el esbozo del yunque, así como la interlínea de la articulación martillo-yunque carente aún de cavidad articular. Medial a estas estructuras, se localiza el nervio cuerda del tímpano (CT), que discurre entre el esbozo del martillo y el esbozo del estribo (HE).

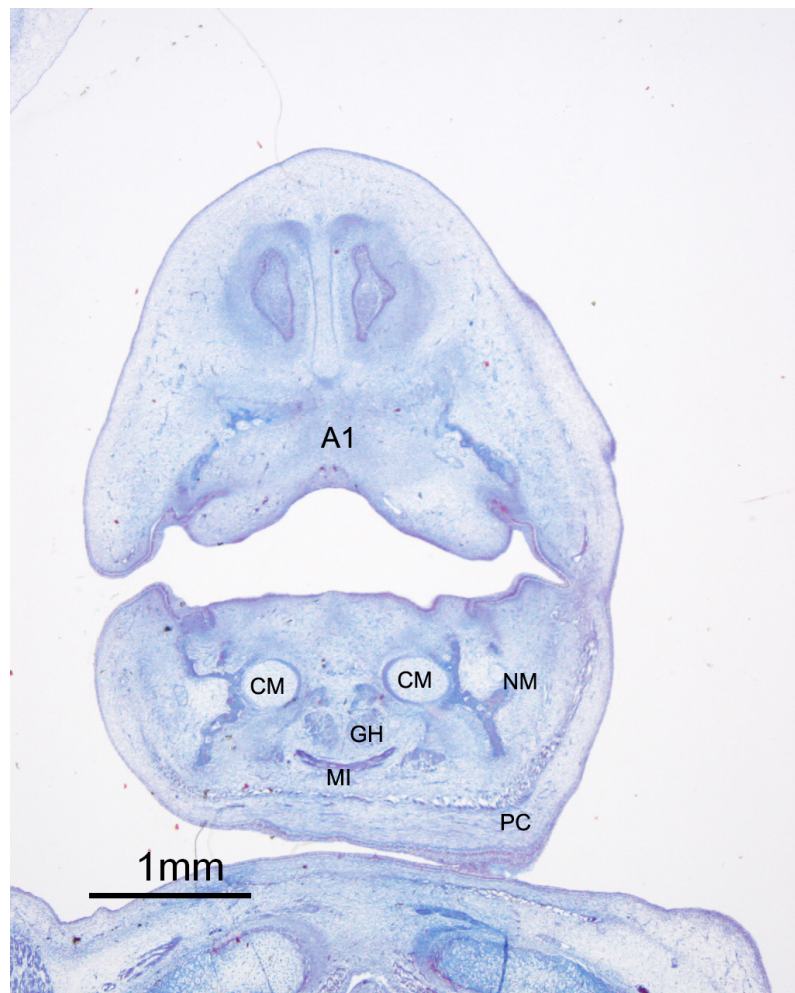


Figura 74. G14 Estadio 22 de la Carnegie.

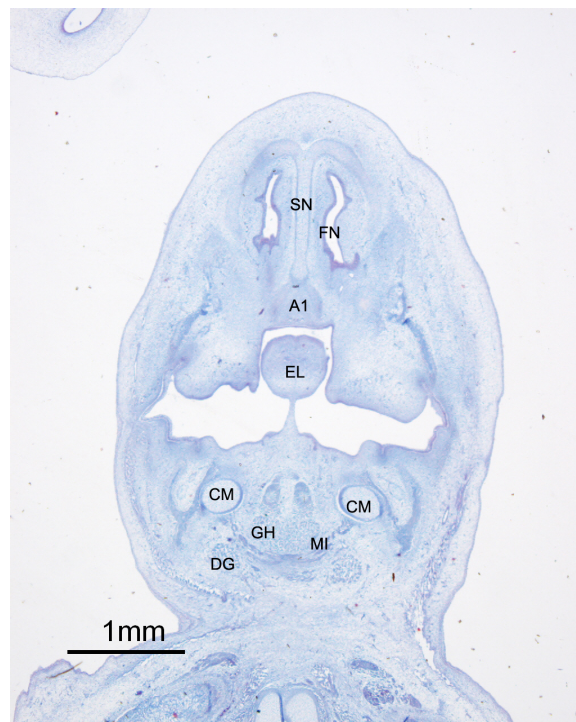


Figura 75. *Gl4* Estadio 22 de la Carnegie.

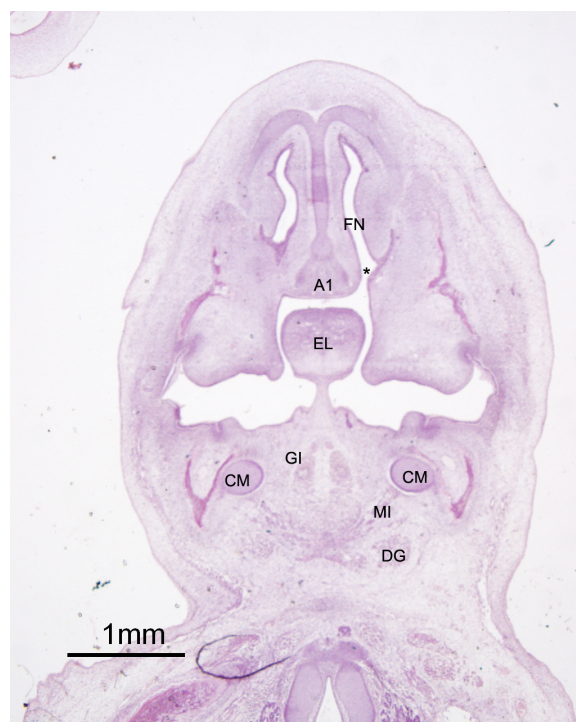


Figura 76. *Gl4* Estadio 22 de la Carnegie.

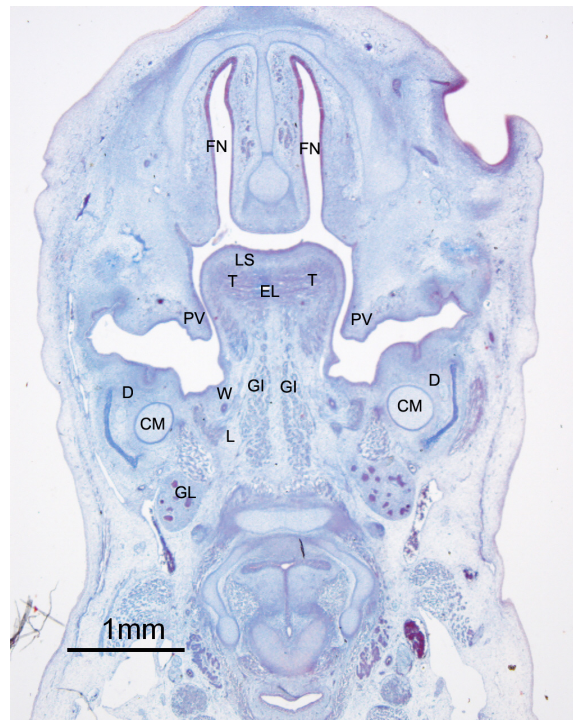


Figura 77. Gl4 Estadio 22 de la Carnegie.



Figura 78. Gl4 Estadio 22 de la Carnegie.

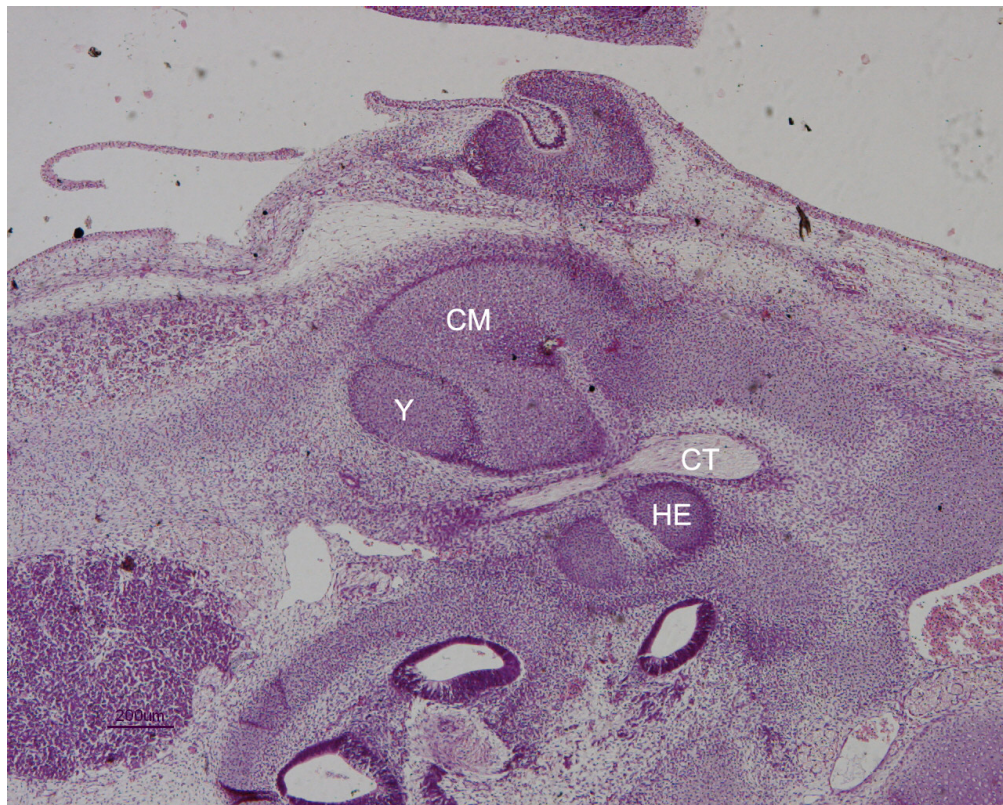


Figura 79. GI4 Estadio 22 de la Carnegie.

Estadio 23 de la Carnegie.

En el estadio 23 de la Carnegie, se establece la separación entre fosa nasal (FN) y cavidad oral (CB) ya que los procesos palatinos han pasado de ser verticales a horizontales, contactando su epitelio en la línea media y por su cara craneal con el septo nasal. Un hecho llamativo en este estadio es el gran incremento en sentido vertical que experimenta la región facial, junto con la menor flexión que muestra la cabeza. En este estadio continúa sin aparecer la articulación temporomandibular, pero la articulación martillo-yunque se hace funcional al desarrollarse la cavidad articular entre sus superficies articulares. El grado de desarrollo de la musculatura masticatoria y lingual es muy avanzado, junto con los procesos de osificación que van modelando tanto el maxilar como la mandíbula.

Para ilustrar los acontecimientos de este estadio 23, seleccionamos los embriones BR4 (figuras 80, 81, 82, 83 y 84) y el embrión CA2 (figuras 85, 86 y 87) ambos seccionados frontalmente a nivel del polo cefálico

En las secciones que afectan al paladar primario del embrión BR4, (fig. 80 y 81), se observa como los núcleos de osificación de ambos maxilares han crecido e invadido la región de la premaxila, sin embargo, en la línea media se visualiza por debajo del septo nasal el tejido mesenquimal que va a originar la sinfibrosis

intermaxilar (fig. 80). En la región posterior del paladar primario (fig.81) y en el lado izquierdo, se observa el contacto entre el paladar primario y la porción anterior de los procesos palatinos, ahora situados según un plano horizontal, procesos que a partir de ahora llamaremos palatinos horizontales (PH). En la zona de contacto entre paladar primario y procesos palatinos horizontales se distingue un reguero epitelial que comienza a desestructurarse para facilitar la unión entre paladar primario (A1) y secundario (PH).

Por detrás del paladar primario. (fig. 82), los procesos palatinos se sitúan horizontalmente contactando en la línea media a través de su epitelio, y como consecuencia de ese contacto, se establece un cordón epitelial orientado verticalmente y situado en la línea media. Por encima de los procesos palatinos se distingue el septo nasal fusionado a la cara craneal de los procesos palatinos horizontales. En la base de implantación de los procesos horizontales se observan los núcleos de osificación del maxilar en ambos, núcleos que comienzan a extenderse e invadir la porción externa del paladar. En posición subyacente al paladar secundario, y alejado de él, se observa al esbozo lingual, situado sobre los cartílagos de Meckel (fig. 82) y los conductos de Wharton y de la glándula sublingual. Por fuera de los cartílagos de Meckel los núcleos de osificación mandibular progresan, incrementándose la osificación de sus láminas, y en el lado izquierdo del embrión, se distingue perfectamente al nervio dentario entre ellas. En secciones que afectan a la porción posterior del paladar duro, (fig. 83) sigue

manteniéndose el cierre entre las fosas nasales y la cavidad oral por interposición de los procesos palatinos horizontales. A este nivel se distingue la osificación de la lámina vertical y horizontal del hueso palatino (HP). Por fuera de este núcleo de osificación observamos en posición craneal al ganglio esfenopalatino (EP) y lateral a él al nervio maxilar (Mx). Del polo inferior del ganglio esfenopalatino, se desprenden los nervios palatinos mayores (PM) (fig. 83).

En secciones que afectan al oído medio puede contemplarse la evolución de los esbozos del martillo y el yunque (fig. 84), así como su articulación, en la que ya existe una cavidad articular y por tanto el soporte anatómico para poder realizar movimiento entre ambos huesos.



Figura 80. BR4 Estadio 23 de la Carnegie.

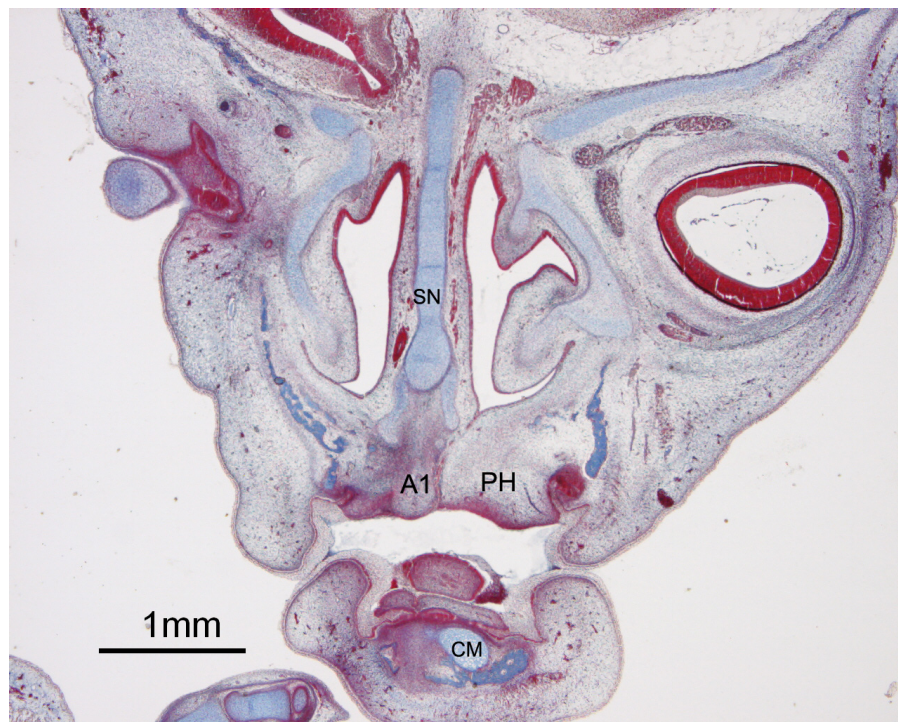


Figura 81. BR4 Estadio 23 de la Carnegie.

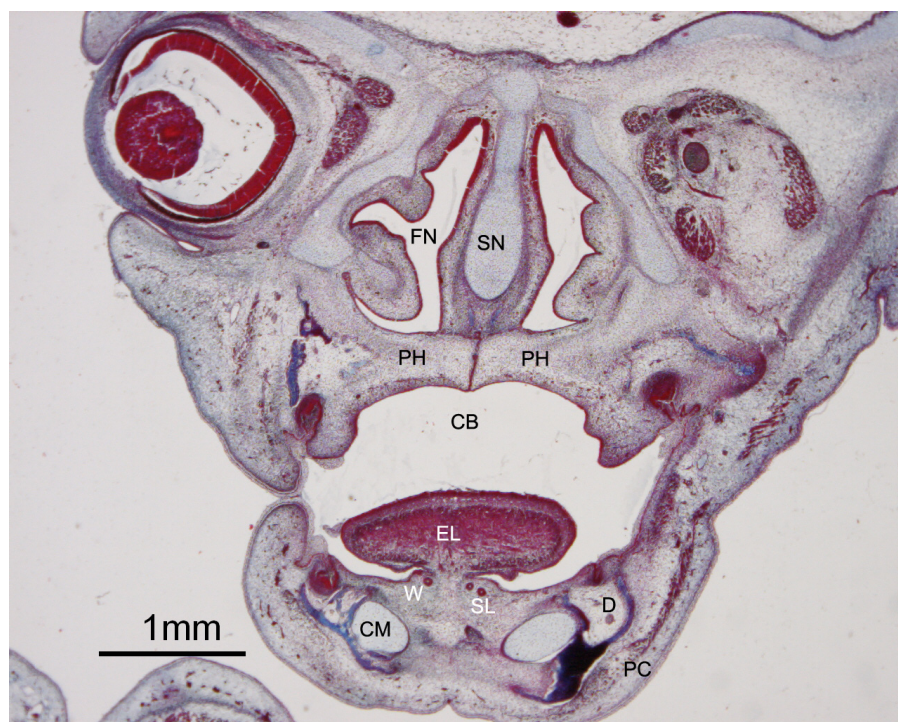


Figura 82. BR4 Estadio 23 de la Carnegie.

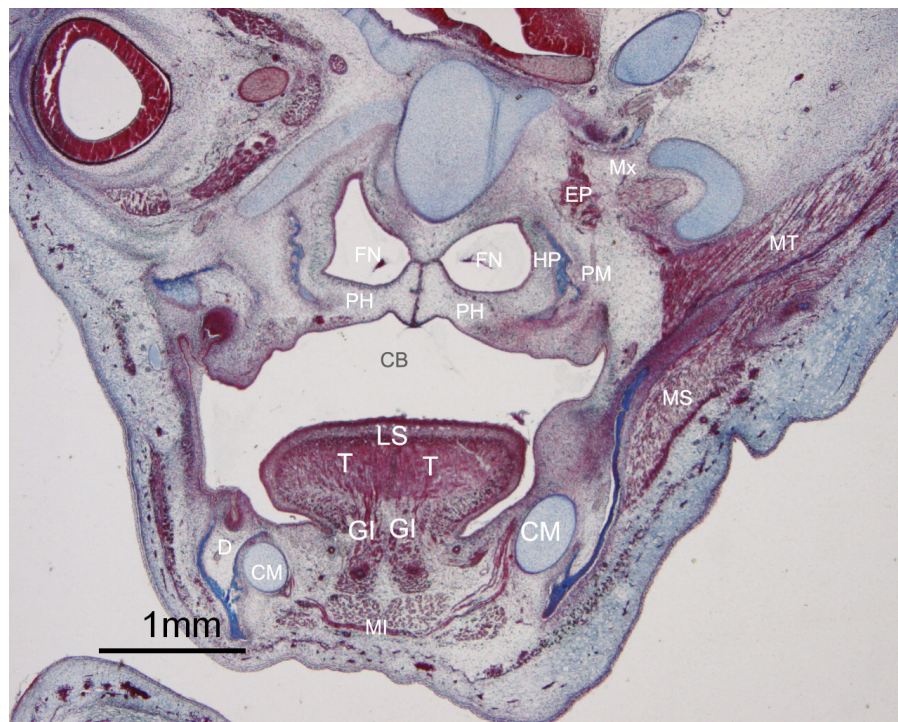


Figura 83. BR4 Estadio 23 de la Carnegie.

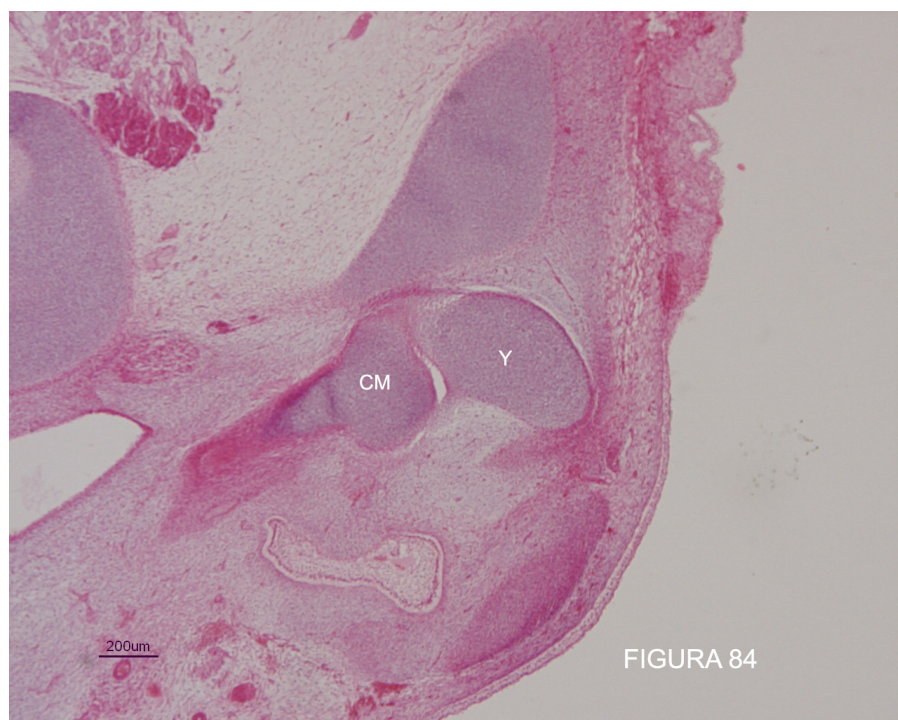


Figura 84. BR4 Estadio 23 de la Carnegie.

El embrión CA2 de 28 mm perteneciente también a este estadio 23, tiene la peculiaridad de presentar un paladar hendido por no elevación del proceso palatino izquierdo. En este embrión, no se observa anomalía ni en las estructuras que van a formar el labio superior ni en el paladar primario.

En cortes anteriores (fig. 85), se observa a las narinas (NA) cerradas por su tapón epitelial y subyacente a ellas la porción posterior del paladar primario (A1), así como el esbozo del hueso maxilar con sus núcleos de osificación correspondientes. Subyacente a las fosas nasales, se sitúa el esbozo lingual, de aspecto claramente asimétrico, siendo mucho más alto en su lado izquierdo que en el derecho. El desarrollo de la musculatura lingual es muy avanzado, diferenciándose los músculos lingual superior (LS), transverso lingual (T), geniogloso (GI) e hiogloso (H). La cara izquierda del esbozo lingual está relacionada con el proceso palatino izquierdo, que mantiene su posición vertical (PV*). En el esbozo mandibular se distingue el cartílago de Meckel (CM), la trabécula de osificación mandibular e insertada en ella el músculo masetero (M), y externa a él el esbozo de la glándula parótida (GP) cuyo conducto de secreción (ST) se aproxima al fondo del vestíbulo oral.

En cortes dorsales, (fig. 86), se aprecian las dos fosas nasales separadas por el septo nasal correspondiente, y cuya luz desemboca a ambos lados libremente en la cavidad oral. En las

paredes laterales de las fosas se aprecian los esbozos de los meatos inferior y medio, que prosiguen su evolución normal. Los procesos palatinos presentan como particularidad una diferencia notable tanto en tamaño como en orientación. El proceso palatino derecho (PH) se sitúa horizontalmente y adquiere una forma cónica de base ancha y vértice medial que no alcanza la línea sagital del embrión (*). En su interior pueden apreciarse las ramas de la arteria palatina mayor y nervios palatinos mayores. El proceso palatino izquierdo (PV*), mucho más largo y afilado, se dispone verticalmente relacionándose por su faceta medial con la cara lateral izquierda de la lengua y por su faceta externa con el esbozo mandibular del lado correspondiente, en el que se observa al cartílago de Meckel, los nervios dentario y lingual, la trabécula de osificación directa mandibular y la inserción de los músculos masetero y pterigoideo interno. En el centro de la cavidad oral, se distingue el esbozo lingual (EL), que sigue manteniendo un aspecto asimétrico similar al observado en los cortes anteriores.

En la figura 87 y a mayor aumento, se observa al proceso palatino del lado izquierdo (PV*) dispuesto verticalmente y recubierto por un epitelio fino en continuidad tanto con el de la fosa nasal como con el resto del epitelio oral. El mesénquima presenta un aspecto más laxo a nivel de su base, y en él se distinguen las ramificaciones del nervio palatino mayor y la arteria palatina de este lado, situada en su base de implantación. Queda patente en esta sección la amplia comunicación que la fosa nasal izquierda tiene

con la cavidad oral (**) y la comunicación que la fosa nasal del lado derecho tiene igualmente con la cavidad oral (*) al presentar el proceso palatino derecho de orientación horizontal, un menor desarrollo que le impide alcanzar la línea media embrionaria.

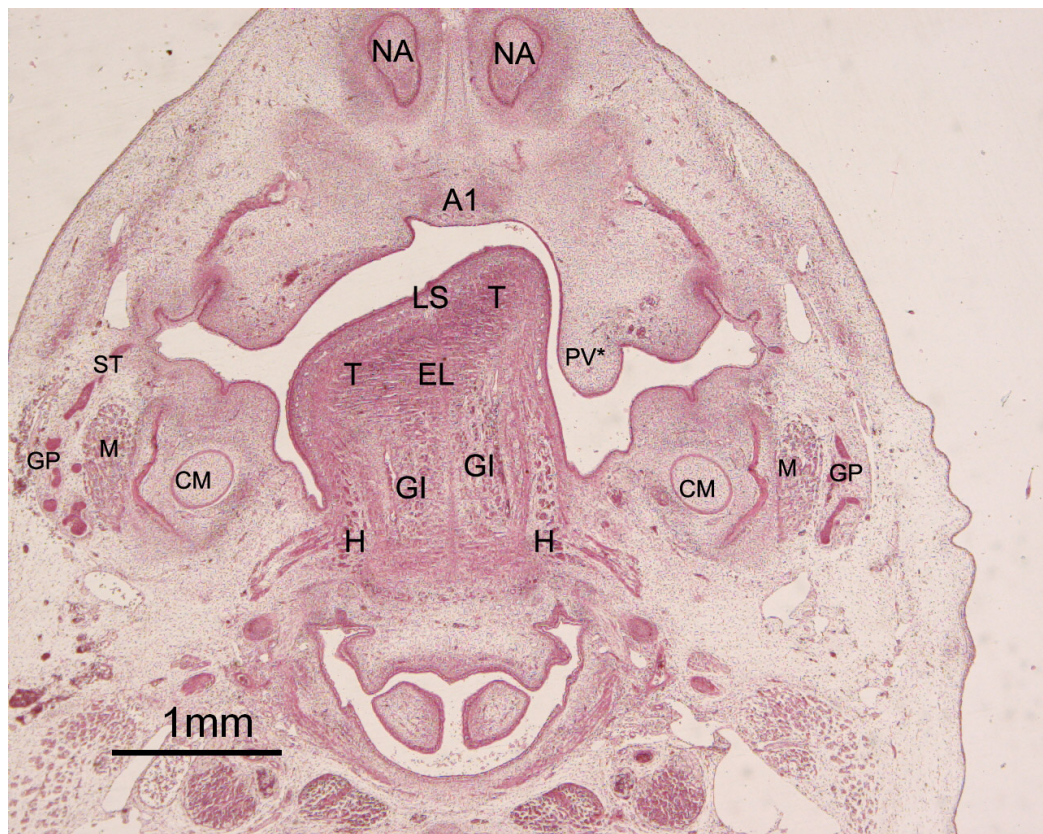


Figura 85. CAS2 Estadio 23 de la Carnegie.

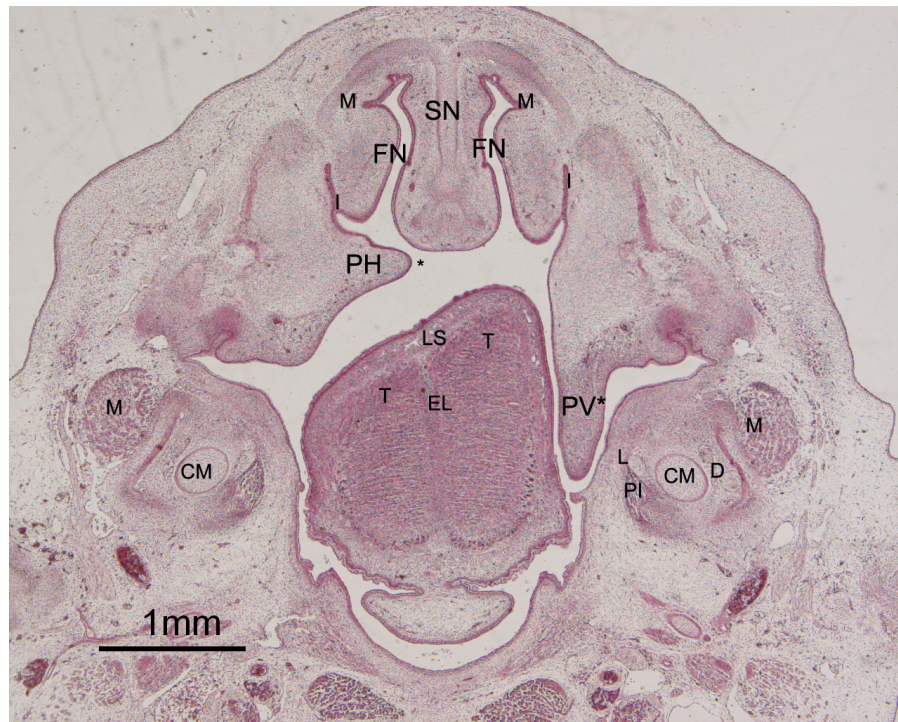


Figura 86. CAS2 Estadío 23 de la Carnegie.

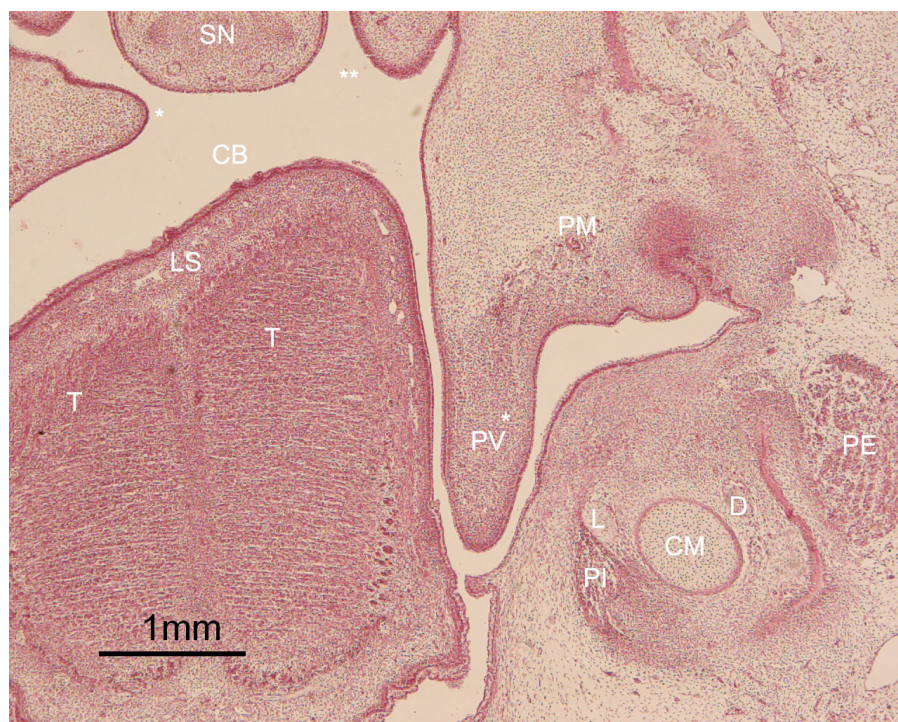


Figura 87. CAS2 Estadío 23 de la Carnegie.

Periodo fetal. 9ª semana de gestación.

Al inicio del periodo fetal el esbozo mandibular ha crecido notablemente en sentido anterior y, como consecuencia, el esbozo lingual se sitúa subyacente al paladar primario. El paladar aísla completamente las fosas nasales de la cavidad oral, ya que en esta fase están perfectamente constituidos el paladar primario y secundario, y cerrada la comunicación existente en periodos anteriores entre la coana primitiva y la cavidad oral por el cierre de la comunicación nasopalatina. En la premaxila, los núcleos de osificación del maxilar se han incrementado y aproximado a la línea media, quedando definida la sutura intermaxilar. Los procesos palatinos horizontales se encuentran adheridos por el cordón epitelial fruto del contacto entre los epitelios que lo delimitan, cordón que persiste en la totalidad del paladar secundario aunque ya inicia signos de fragmentación. Los núcleos de osificación del maxilar progresan hacia la base del proceso palatino horizontal, progresión que es más evidente en la zona anterior del paladar secundario.

Para describir los acontecimientos durante inicio del periodo fetal, hemos seleccionado el feto ME1 de 37 mm de longitud y 9 semanas de gestación, seccionado transversalmente. En secciones anteriores (fig.88), puede observarse al paladar primario plenamente constituido y consolidado (A1), en cuyo interior progresan y evolucionan sus núcleos de osificación, núcleos que no llegan a contactar en la línea media, ya que se interpone el tejido

mesenquimal que va a formar la sutura intermaxilar. Suprayacente al paladar primario se sitúan los extremos anteriores de las narinas (NA), abiertas a la cavidad amniótica y obstruidas por el tapón mucoso epitelial que es constante desde el periodo embrionario. Subyacente al paladar primario se sitúa el esbozo mandibular formado a este nivel por dos ramas de osificación externa e interna abiertas cranealmente adoptando la típica disposición en “V”. Entre ambas ramas se sitúa el nervio dentario (D) y suprayacente a él el esbozo del primer molar decidual (m). Aplicado a la cara interna del esbozo mandibular se localiza el cartílago de Meckel rodeado por su correspondiente pericondrio. Es precisamente en este cartílago donde se produce la inserción del músculo milohioideo. El esbozo lingual (EL) presenta un marcado desarrollo de su musculatura, pudiendo diferenciarse músculos intrínsecos como el transverso lingual (T) y lingual superior (LS) y extrínsecos como el geniogloso (GI) y el hiogloso (H). A este nivel, se aprecia en posición subyacente a la mandíbula y externa al hueso hioides (HH) en fase de cartílago, el esbozo de la glándula submandibular (GL), cuya porción interna, prolongación sublingual de la glándula submandibular, penetra por el hiato limitado entre los músculos hiogloso y milohioideo. También es patente en ambos lados el conducto de Wharton (W) y suprayacente a él el ganglio parasimpático submandibular y el nervio lingual.

En cortes posteriores, (fig. 89), observamos la transición entre paladar primario y secundario pudiendo apreciarse a los procesos

palatinos horizontales (PH), unidos en la línea media por un cordón epitelial sagital que hacia arriba se prolonga externamente delimitándose en ambos lados un estrecho conducto que representa el vestigio de la comunicación nasopalatina (NS). Los núcleos de osificación del maxilar en esta parte de paladar secundario penetran en la base de implantación del proceso horizontal, en cuyo mesénquima se hacen presentes las ramificaciones del nervio palatino mayor (PM). Subyacente al paladar secundario se observa al esbozo lingual a nivel de su base, identificándose fibras del músculo transverso lingual y lingual superior. En el esbozo mandibular se distinguen sus núcleos de osificación y el cartílago de Meckel. Además son patentes las fibras del músculo masetero, el nervio dentario, el músculo milohioideo y el músculo buccinador (MBC). Suprayacente a los procesos palatinos horizontales y en la línea media, se observa el esbozo del septo nasal (SN) interpuesto entre las dos fosas nasales.

En cortes posteriores, (fig. 90), a nivel del extremo posterior de la base lingual, el paladar secundario lo integran los procesos palatinos horizontales (PH) que mantienen su contacto en la línea media por el cordón epitelial, cordón en el que se aprecian signos de fragmentación, inicio de su ulterior desaparición. A este nivel el núcleo de osificación maxilar continúa su progresión en la base de los procesos horizontales maxilares. Se observa igualmente el septo nasal (SN) suprayacente al paladar secundario, las fosas nasales y la evolución del meato inferior (I). A nivel del esbozo

mandibular observamos a su núcleo de osificación directo, al cartílago de Meckel y a los nervios dentario (D) y lingual (L) que se sitúan suprayacentes al cartílago de Meckel, uno en posición externa, nervio dentario y el lingual en posición medial, por fuera del esbozo mandibular se aprecia la inserción del músculo masetero (MS).

En secciones que afectan a la porción posterior del paladar no se observa al esbozo lingual y si la orofaringe. Fig. 91 y 92. En ambas figuras el paladar secundario está integrado por los procesos palatinos horizontales unidos en la línea media por el cordón epitelial y separando a estos niveles las fosas nasales de la orofaringe. En la figura 91 podemos apreciar el desarrollo del meato inferior (I) extendido laterocranealmente y al conducto lacrimonasal (LN) muy próximo a él. En el proceso palatino horizontal se sitúan las fibras del nervio palatino mayor (PM) y, rodeado por los núcleos de osificación del maxilar, al nervio maxilar (Mx) a nivel de su porción terminal o nervio infraorbitario. En la figura 92 se distingue el núcleo de osificación directo que forma la lámina vertical de hueso palatino (HP), y lateral a él, las fibras del nervio palatino mayor. El paladar secundario lo forman los procesos palatinos horizontales que contactan en la línea media, interponiéndose entre ambos un fino cordón epitelial que marca la posición de la sutura sagital del paladar. Bajo la órbita se localiza el nervio maxilar (Mx) subyacente a la evolución del globo ocular (GO) y los músculos extrínsecos de la órbita (MEO).

En las figuras 91 y 92, observamos al extremo posterior del cuerpo de la mandíbula con las inserciones de los músculos masetero (MS) y pterigoideo interno (PI), el cartílago de Meckel (CM) y los nervios dentario (D) y lingual.



Figura 88. ME1. Feto 37 mm.

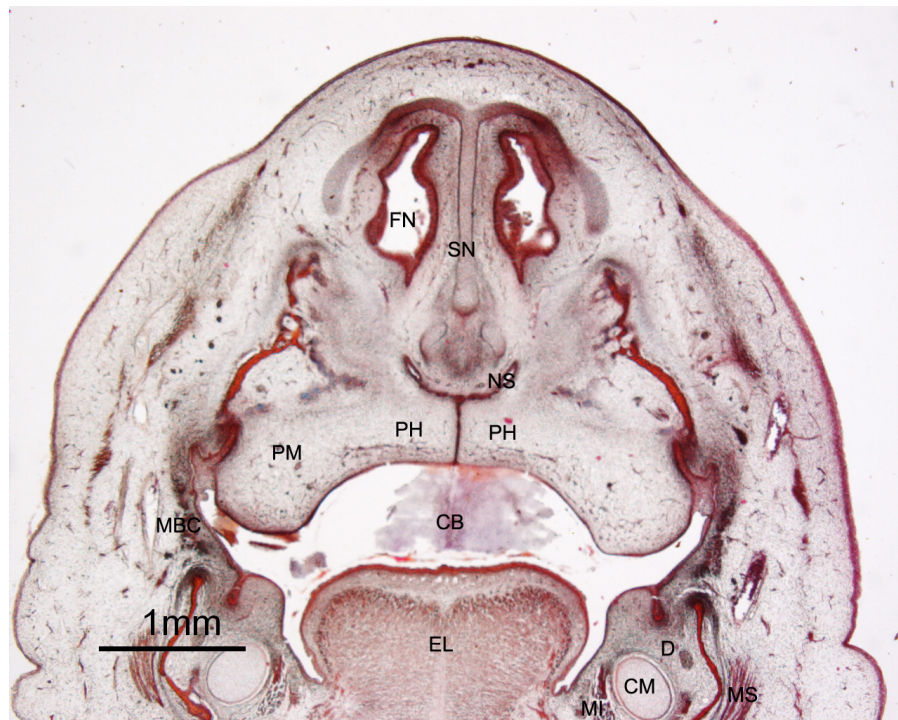


Figura 89. ME1. Feto 37 mm.



Figura 90. ME1. Feto 37 mm.

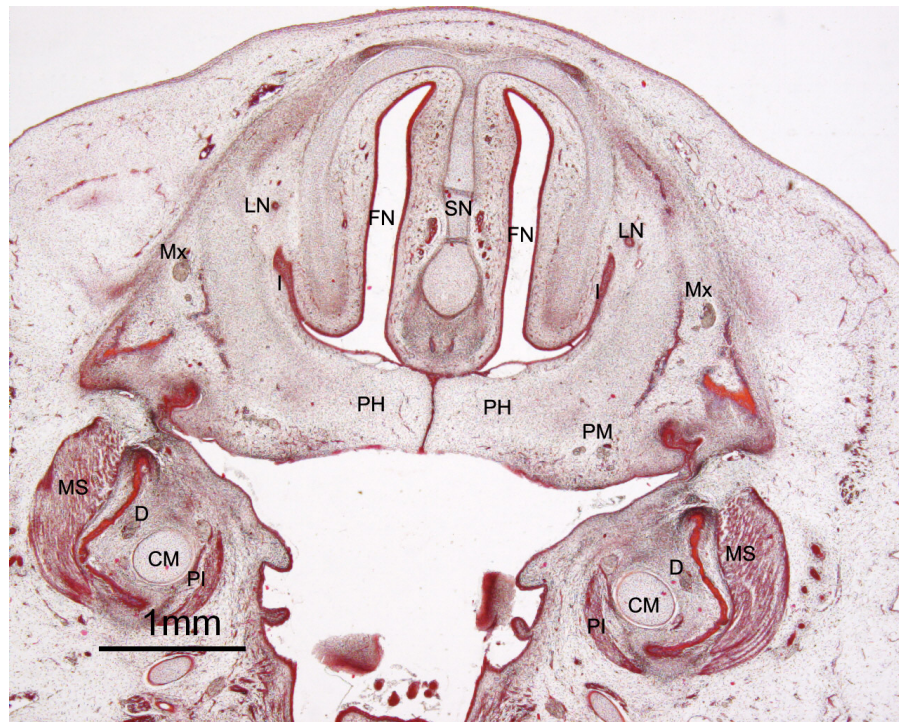


Figura 91. ME1. Feto 37 mm.

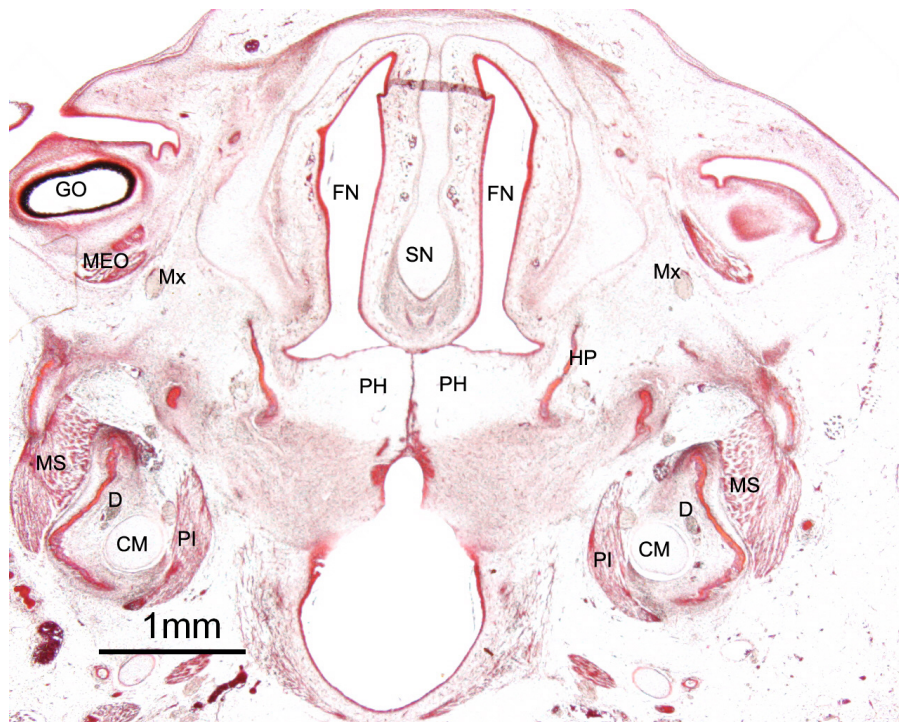


Figura 92. ME1. Feto 37 mm.

Periodo fetal. 10ª semana de gestación.

Hemos seleccionado el feto JR3 por presentar un paladar hendido en ausencia de anomalías tanto en labio superior como en paladar primario. En cortes anteriores del paladar (fig. 93), se observa al proceso palatino del lado derecho con disposición horizontal y con forma rectangular (PH). Está integrado por un núcleo mesodérmico y una cubierta epitelial, algo más engrosada en su borde medial y basal. En su base se distingue las ramificaciones del nervio palatino mayor y el núcleo de osificación maxilar que aún no llega a penetrar dentro del citado proceso. El borde medial no llega a alcanzar al septo nasal (*), quedando una amplia comunicación entre la fosa nasal derecha (FN) y la cavidad oral (CB).

El proceso palatino del lado izquierdo se orienta verticalmente (PV), es menos grueso y más largo que el derecho y se interpone entre la faceta izquierda del esbozo lingual (EL) y el esbozo mandibular del lado izquierdo. Su mesénquima es laxo y no está invadido por el núcleo de osificación del maxilar correspondiente. Las fosas nasales poseen un grado de desarrollo normal, estando en comunicación ambas con la cavidad oral **.

El esbozo lingual muestra una asimetría siendo más alto su borde izquierdo que el derecho. El desarrollo de la musculatura intrínseca y extrínseca es evidente, pudiendo distinguirse a este

nivel las estructuras mandibulares; cartílago de Meckel y núcleo de osificación directa mandibular, músculos masetero, buccinador y milohioideo, músculos hioglososo, hioides y esbozo de la glándula submandibular y el hueso hioides (HH) en fase de cartílago.

En cortes posteriores (fig.94) y a mayor aumento, se observan las características topográficas y evolutivas antes citadas, distinguiéndose al esbozo lingual con su aspecto claramente asimétrico y con un evidente y marcado grado de diferenciación muscular.

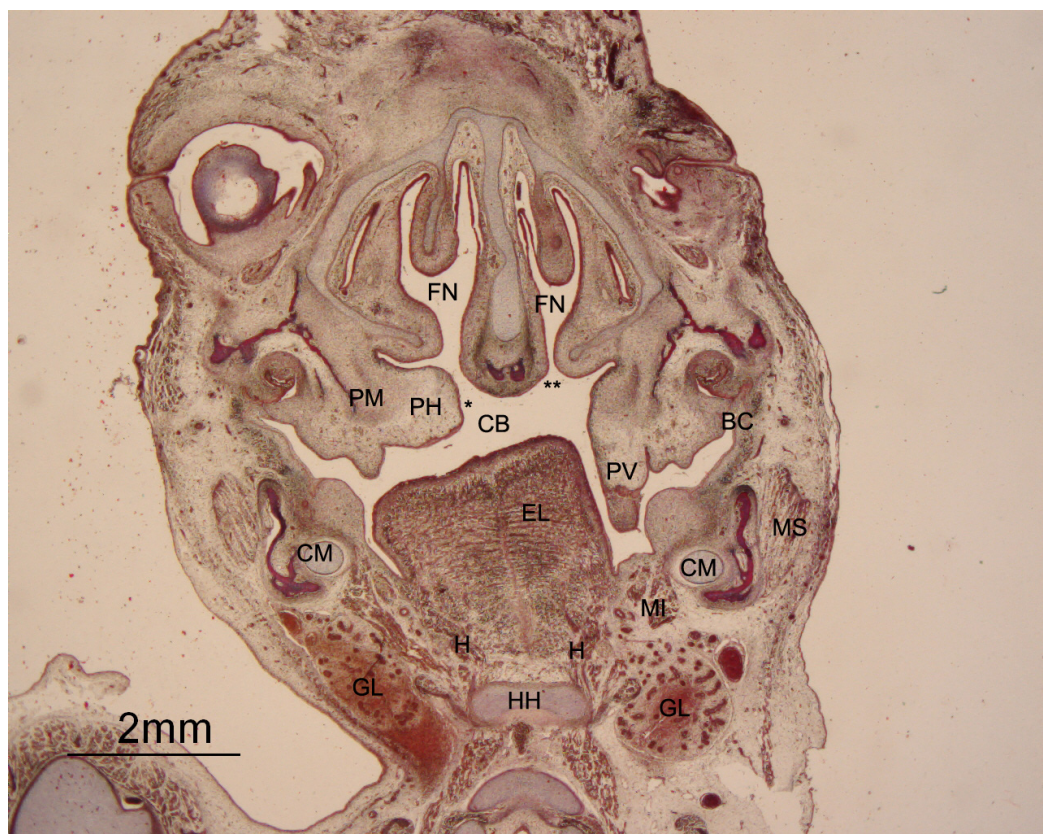


Figura 93. JR3. Feto 43mm.

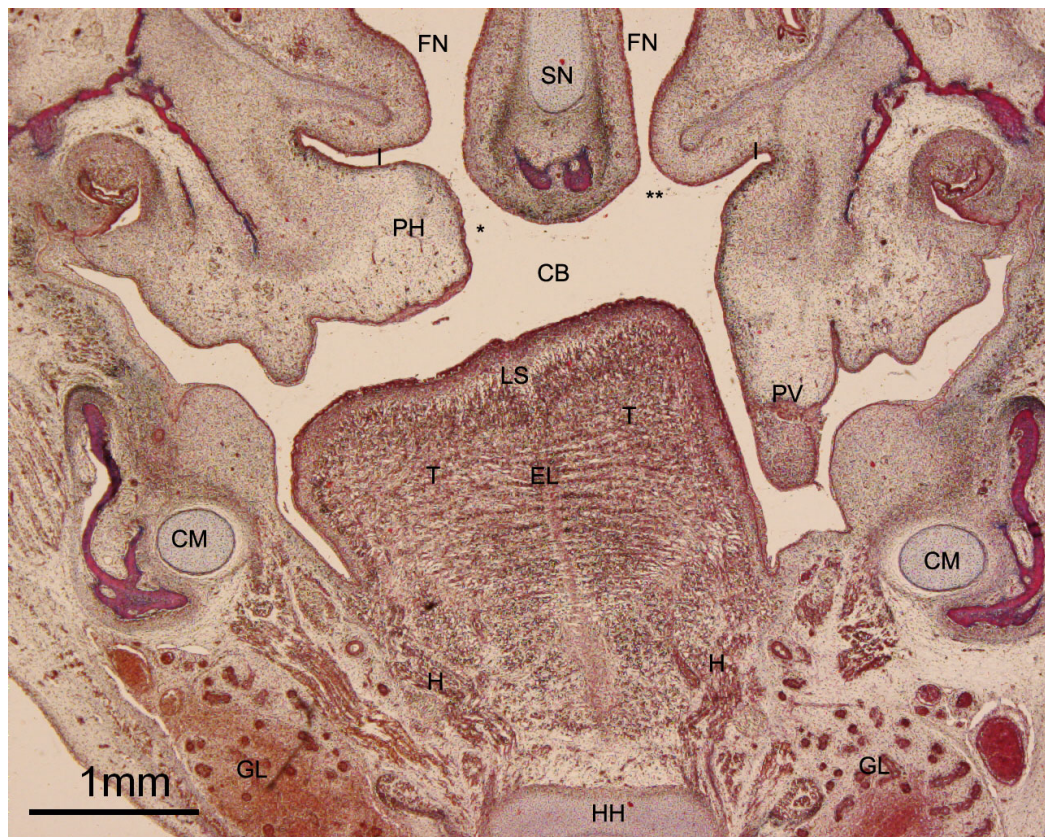


Figura 94. JR3. Feto 43mm.

Discusión

Discusión

La hendidura labial y las hendiduras palatinas aisladas o asociadas, son malformaciones craneales graves que conllevan trastornos funcionales importantes, digestivos, respiratorios o fonatorios, además de alteraciones estéticas y psicológicas considerables.

Las alteraciones causantes de estas malformaciones se producen fundamentalmente durante el periodo embrionario, siendo múltiples las posibles causas que actúan modificando el desarrollo normal y como consecuencia produciendo las citadas anomalías.

El paladar es una estructura perteneciente al macizo facial superior que establece la separación entre las fosas nasales y la cavidad bucal propiamente dicha. Su correcta formación es imprescindible para el armónico desarrollo de la cara y su evolución está íntimamente asociada al desarrollo de las fosas nasales y de las estructuras que constituyen la cavidad oral.

Los arcos branquiales, faríngeos o viscerales juegan también un importante papel en la formación del paladar, de manera especial el primer arco, ya que dará origen a los huesos maxilar y palatino, huesos que por su apófisis horizontales separan en el adulto las fosas nasales de la cavidad bucal.

El primer arco branquial está formado por un núcleo central mesodérmico rodeado por el ectodermo externamente y endodermo faríngeo internamente. El componente mesodérmico se desarrolla a partir de un núcleo de mesénquima paraxial que deriva muy precozmente del núcleo primitivo y que se incrementa por la aportación de material de la cresta neural y de los discos epifaríngeos (O’Rahilly y Müller 1998), constituyendo el denominado ectomesénquima.

Las células de la cresta neural proliferan y emigran formando células ectomesenquimales o neuroectodérmicas que al situarse ventralmente contribuyen a formar la mayor parte de las estructuras de la cara y órganos dentarios. En opinión de Gómez de Ferraris y Campos (2002) la disminución de moléculas de adhesión al comienzo de la etapa migratoria, el estímulo del factor activador del plasminógeno y un incremento en la producción de ácido hialurónico facilitan el proceso migratorio.

El primer arco se escinde, al principio del período embrionario, en los mamelones maxilar y mandibular que junto con el mamelón frontal delimitan el estomodeo o boca primitiva (Moore 2004) al inicio de la cuarta semana de gestación. Nosotros hemos observado el estomodeo en embriones del estadio 11 de la Carnegie limitado entre el mamelón frontal y el relieve pericárdico, tal y como ya señaló Orts Llorca (1982), no participando el primer arco en las fases iniciales. Coincidimos con Gray (1985) cuando

afirma que en esta fase aún no se ha formado el arco mandibular.

En el estadio 12 de la Carnegie se aprecia por primera vez el mamelón mandibular, interponiéndose entre el estomodeo y el relieve pericárdico, constituyendo el límite inferior de la cavidad oral primitiva. En este estadio ha desaparecido la membrana bucofaríngea, hecho que sucede con anterioridad a lo descrito por Orts Llorca (1969).

En nuestro material de estudio, la fosa nasal inicia su desarrollo en el estadio 13 de la Carnegie, como un engrosamiento ectodérmico que forma la placoda nasal. La placoda se invagina en el estadio 14 de la Carnegie para originar las fosas olfativas, siendo la dirección de la invaginación craneal, dorsal y medial, delimitándose a partir de este momento los procesos nasales lateral y medial.

Coincidimos con Esporrín Bosque (1990) al considerar que el proceso de invaginación es activo, debido a la actividad proliferativa de la placoda nasal, y discrepamos con Hamilton y Mossman (1975) ya que en opinión de estos autores, la formación de los procesos nasales se debe a los cambios en el crecimiento del cerebro anterior. Tampoco consideramos, tal y como afirman Sadler (1956) y Moore (1976) que la formación de los procesos nasales se produzca por proliferación interna del mesénquima subyacente.

Sobre el inductor responsable de la aparición de la placoda nasal

existen múltiples hipótesis, habiéndosele atribuido al prosencéfalo (Bhaskar 1986), al telencéfalo (Kucherova 1945 y Haggis 1956) y al mesoblasto precordial (Orts Llorca y Murillo Ferrol 1961)

Orts Llorca, Jiménez Collado y Ruano Gil (1962) describen grandes malformaciones craneofaciales como consecuencia de alteraciones en la formación de las placodas nasales, que conllevan entre otras lesiones, defectos importantes en la tabicación entre fosas nasales y cavidad oral.

En el estadio 14 de la Carnegie, la apertura de las fosas olfativas se realiza en la cara externa de la porción anterior del mamelón frontal. En el estadio 15 de la Carnegie cambian de orientación, desembocan en el techo del estomodeo y se aproximan a la línea media.

Para Esporrín Bosque (1990) estos cambios son consecuencia de la modificación en la orientación de la invaginación de las fosas olfativas y del intenso crecimiento lateral que experimentan la vesículas telencefálicas.

En nuestra opinión, el crecimiento de las vesículas telencefálicas y la formación de las vesículas ópticas condiciona el incremento transversal del polo cefálico, facilitando la aproximación entre las fosas olfativas. Sin embargo, las modificaciones observadas en la orientación y desembocadura de las fosas

olfativas las atribuimos no al cambio en la dirección de la invaginación, sino al crecimiento diferencial entre la hoja interna y la hoja externa de las citadas fosas. Como puede observarse en el estadio 15 de la Carnegie, la hoja externa de la fosa es más corta y está orientada cráneo-lateralmente, mientras que la interna ha crecido más y posee una doble orientación. La parte caudal está situada en el plano parasagital y la craneal muestra una disposición oblicua cráneo-lateralmente.

Según nuestras observaciones, los cambios producidos en el estadio 15 de la Carnegie son muy importantes para la correcta formación del *philtrum labial* y la porción correspondiente del proceso alveolar y paladar primario. Alteraciones en el proceso descrito, justificarían, en nuestro criterio, la aparición de las rarísimas fisuras labiales medias.

Otro hecho llamativo observado en este estadio 15 de la Carnegie, es el íntimo contacto que *bulbus cordi* y *truncus arteriosum* tienen, a través de la cavidad y relieve pericárdico, en la línea media del mamelón frontal. Se establece el surco interglobular como suave depresión entre los mamelones nasales internos. Pensamos que, de persistir este contacto, facilitaría la alteración en la formación de la zona central del labio superior, ocasionando anomalías parciales o completas en el *philtrum labial*, o en casos más graves un desarrollo mediofacial incompleto o ausente, como sucede en la displasia frontonasal.

Ros y Johnston (1972) consideran que la presión ejercida por el relieve pericárdico sobre el mamelón frontal dificultaría la aproximación de los esbozos oculares, y condicionaría una emigración defectuosa del mesénquima, atribuyendo a esta circunstancia la aparición de hendiduras del labio y del paladar. Nosotros coincidimos con esta afirmación.

En el estadio 15 de la Carnegie, las fosas olfativas profundizan en dirección dorsal y caudal, contactando su epitelio con el estomodeo. Este contacto determina la formación del espolón nasal de Streeter, tal y como afirma Hamilton (1975) y que Esporrín Bosque (1990) localiza en este estadio como membrana buconasal al adelgazarse progresivamente.

En el estadio 16 de la Carnegie, aparece el mamelón maxilar, que paulatinamente crece en dirección medial. En este estadio alcanza al nasal interno y del contacto y adhesión de sus epitelios se origina un cordón epitelial. Como consecuencia, las fosas olfativas quedan aisladas del estomodeo por el citado espolón y la membrana buconasal. Según López Pelayo (1982), el cordón epitelial que nosotros observamos en el estadio 16 de la Carnegie, tiene un doble origen. La zona posterior se formaría por aposición de los procesos frontonasales, y la región anterior por contacto entre los mamelones maxilar y nasal interno. Para Hamilton y Mossman (1975) se forma por contacto entre el ectodermo de los mamelones nasal externo y nasal interno.

Nosotros discrepamos con ambos, pues queda claro observando lo sucedido en los embriones que estudiamos del estadio 16, que solo el contacto de los epitelios del mamelón maxilar y nasal interno forman el citado cordón.

Según lo observado en nuestro material, el mamelón maxilar no alcanza la línea media, por lo que discrepamos con Fraser (1931) ya que este autor afirma que el mamelón maxilar crece por debajo del mamelón frontonasal y contacta y se fusiona en la línea media con el contralateral para formar la totalidad del labio superior.

Nosotros coincidimos con la mayoría de autores al considerar que la zona central del labio superior, o *philtrum labial* se forma a partir del mamelón nasal interno y frontonasal, quedando reservado el mamelón maxilar para la parte externa del labio superior.

Alteraciones en el crecimiento medial del mamelón maxilar, conllevarían el no contacto con el epitelio del nasal interno, y por lo tanto, la aparición de una hendidura labial, que si se produce en ambos lados, daría lugar a una hendidura labial bilateral.

En opinión de Esporrín Bosque (1990), en la formación del paladar primario intervienen exclusivamente los mamelones maxilar y nasal interno. Nosotros discrepamos, ya que, según lo observado en nuestro material, el paladar primario se forma solo a expensas del mamelón nasal interno con la aportación del frontonasal. La

formación del espolón epitelial es para nosotros crucial para la formación correcta del labio superior, ya que, si no contactan los mamelones maxilares y nasal interno, no podría fusionarse el mesodermo que los integra y sería imposible la constitución de un labio normal. La no formación de este cordón daría lugar a la aparición de una hendidura labial y/o una hendidura palatina anterior.

En el estadio 18 de la Carnegie desaparece el cordón epitelial interpuesto entre los mamelones nasal interno y maxilar, por lo que el mesodermo de ambos se mezcla y se consolida la formación del labio superior. Tan solo persiste, en las fases iniciales de este estadio, la membrana nasofaríngea.

Coincidimos con López Pelayo (1982) y Esporrín Bosque (1990) cuando afirman que la desaparición del espolón epitelial es previa a la comunicación por la coana primitiva entre las fosas nasales y la cavidad oral. La no desaparición de este cordón epitelial impediría la mezcla y fusión del mesodermo entre los mamelones maxilar y nasal interno, hecho que en opinión de Veau (1942) ocasionaría la aparición de hendidura labial y/o hendidura palatina.

En nuestras observaciones en la fase inicial del estadio 18 de la Carnegie, el esbozo del labio superior y paladar primitivo se sitúan en posición dorsal al esbozo lingual y mandibular siendo las

narinas, orientadas horizontalmente, la única comunicación entre fosa nasal y estomodeo. Para Orts Llinares (1986), las relaciones que establece el paladar primario con el esbozo mandibular, son consecuencia de la aproximación a la línea media de los globos oculares observada en embriones de 14 mm y del crecimiento hacia abajo y hacia delante del septo nasal. Diewert (1985 a y b) atribuye gran importancia para la correcta formación de la cara al intenso crecimiento hacia delante de los esbozos de la región facial superior.

A partir de embriones de 16 mm, que se corresponden con estadio 18 de la Carnegie, se producen hechos importantes con relación al esbozo del labio superior y paladar primitivo. Por un lado y debido al intenso crecimiento anterior del cartílago de Meckel y del esbozo mandibular, el esbozo del labio superior y paladar primitivo se van situando suprayacentes al extremo anterior del esbozo de lengua y mandíbula.

Por otro lado, desaparece la membrana buconasal, hecho que determina la formación de la coana primitiva. Autores como Hamilton y Mossman (1975), Sadler (1986), y Moore (1976), localizan la desaparición de la membrana buconasal en embriones de 12 a 14 mm -estadios 16-17 de la Carnegie-. Sobrado Pérez y Jiménez Collado (1978) lo describen en embriones de 15 mm. Nosotros lo observamos en embriones del estadio 18 de la Carnegie, hallazgo coincidente con lo manifestado por Esporrín

Bosque en 1990. En el estadio 18 de la Carnegie, que se corresponde con embriones de 16 a 18 mm de longitud, se produce una modificación en las relaciones entre esbozo del labio superior y el extremo anterior del esbozo mandibular. En efecto, el esbozo del labio superior y el paladar primitivo se sitúan suprayacentes a la porción anterior del esbozo mandibular.

Este importante cambio pensamos que se produce por el intenso crecimiento antero inferior que experimenta el cartílago de Meckel, crecimiento que ha sido demostrado experimentalmente, tal y como ya se recogía en los trabajos de Diewert (1976) utilizando ratas como material de estudio o en los trabajos de Jelinek y Peterk (1977), Seegmiller y Fraser (1977) usando como animal de experimentación el ratón. Diewert (1985) afirma que también, en embriones humanos de 7 a 10 semanas de gestación, el cartílago de Meckel experimenta un intenso crecimiento rostral. Todos estos autores coinciden en señalar que el crecimiento anterior del cartílago de Meckel se produce siempre en la fase previa a la elevación de los proceso palatinos y lo consideran un elemento clave para que se produzca el adecuado cierre del paladar secundario.

Al mismo tiempo se produce un cambio en la orientación de las narinas. Ahora, en embriones de 16-18 mm, se sitúan en un plano frontal y por tanto, no desembocan en el techo del estomodeo. Coincidimos con Esporrín Bosque (1990) al considerar

que el crecimiento ventral y caudal del mesodermo del mamelón frontonasal es el responsable de este cambio de orientación. Las narinas aparecen rellenas de un tapón mucoso que en opinión de Hamilton y Mossman (1975) jugará un importante papel en la tabicación del paladar secundario.

Durante el estadio 18 de la Carnegie y en embriones de 16 mm observamos por vez primer a los procesos palatinos verticales. Surgen como prolongaciones mesodérmicas del mamelón maxilar cubiertas por epitelio, dirigidas caudomedialmente y relacionadas con la faceta inferior del esbozo lingual. Esporrín Bosque (1990) describe esta situación en el estadio 20 de O’Rahilly, sin embargo nosotros lo observamos en fases anteriores. La formación de los procesos palatinos verticales es clave para la construcción del paladar secundario, ya que constituyen la primera manifestación o esbozo de éste. Alteraciones en la cantidad del componente mesodérmico en esta fase tan precoz, condicionarían procesos palatinos verticales cortos que, al elevarse en fases posteriores, no podrían alcanzar al proceso contralateral en la línea media, lo que ineludiblemente llevaría a una hendidura palatina posterior.

En el estadio 20 de la Carnegie observamos por primera vez los núcleos de osificación directa de los maxilares. Estos comienzan a nivel de la premaxila y no contactan en la línea media ya que existe un tejido indiferenciado interpuesto, esbozo de la sutura

intermaxilar. La primera manifestación de estos núcleos la contemplamos al inicio de este estadio, embriones de 19 mm.

Latham (1970) describe en esta fase una condensación mesenquimal que denomina septo-premaxilar. La citada estructura conectaría el septo nasal con los núcleos de osificación del maxilar. Para él, esta estructura sería la responsable de la transmisión de fuerzas del septo sobre el paladar primario. En nuestro material no hay evidencia del llamado ligamento septo-premaxilar, pues lo que este autor identifica como ligamento nosotros lo interpretamos como mesénquima no osificado que formará la sutura intermaxilar, coincidiendo plenamente con lo manifestado por Esporrín Bosque (1990).

También al comienzo del estadio 20 de la Carnegie observamos al surco vestibular que al profundizar separa el esbozo del paladar primario del esbozo del labio superior, esbozo este último que desde su inicio posee fibras diferenciadas del músculo orbicular de los labios.

Los procesos palatinos siguen con su orientación vertical y mantienen sus relaciones con la faceta latero-basal del esbozo lingual. Las narinas continúan cerradas por un tapón mucoso y las fosas nasales comunican ampliamente por detrás del paladar primario con la cavidad oral mediante unas amplias coanas primitivas.

Analizando las relaciones topográficas que el esbozo lingual muestra durante el estadio 20 de la Carnegie, se evidencia el contacto entre su dorso y el extremo caudal del septo nasal. Asimismo, como puede observarse en el embrión PR de 19 mm seccionado sagitalmente y perteneciente al inicio de este estadio, el extremo anterior de la lengua se sitúa dorsal y suprayacente al esbozo del paladar primario.

En embriones de 20 mm, el extremo anterior del esbozo lingual se sitúa subyacente al paladar primario. Esta modificación coincide con el contacto que en la línea media mantienen los cartílagos de Meckel, tal y como manifiestan O’Rahilly y Gardner (1965) y que en opinión de Rodríguez Vázquez y colaboradores (1992) es consecuencia del crecimiento anterior de los citados cartílagos.

Como consecuencia del crecimiento anterior del cartílago de Meckel, el esbozo de la mandíbula y el esbozo lingual van progresivamente adelantándose durante los estadios 21 y 22 de la Carnegie y, como consecuencia, su situación es cada vez más anterior y subyacente al esbozo del paladar primario. Rodríguez Vázquez y colaboradores (1997b) afirman que como consecuencia del crecimiento anterior de los cartílagos de Meckel, en el estadio 21 de la Carnegie, éstos se elevan en su extremo anterior y presentan una curvatura cráneo-medial que se mantiene durante gran parte del desarrollo. En opinión de estos autores, la elevación

en el plano frontal del extremo anterior de ambos cartílagos se explica por ser la única zona sobre la que pueden crecer, ya que, hacia abajo se lo impide la osificación y organización trabecular de la mandíbula.

Nosotros coincidimos con lo manifestado por Rodríguez Vázquez y colaboradores (1997b) y creemos que este crecimiento va a posibilitar el desplazamiento antero-inferior del esbozo mandibular, desplazamiento que condiciona un aumento en la dimensión vertical de la cavidad oral fundamental para el cierre del paladar secundario.

En el estadio 23 de la Carnegie se produce el cierre del paladar secundario al horizontalizarse los procesos palatinos. En efecto, los procesos palatinos, ahora horizontales, contactan en la línea media y se constituye un cordón por aposición de sus epitelios. También hay contacto con el epitelio del septo nasal cranealmente y con el epitelio posterior del paladar primario. Precisamente en el contacto con el paladar primario se observa un cordón epitelial que comienza a desestructurarse para iniciar la unión entre ambos.

Este proceso de tabicación del paladar secundario ha sido descrito por Orts Llinares (1986) en embriones de 24 a 25 mm y por Génis Gálvez (1970) en fetos de 30 a 35 mm. En nuestro material lo observamos en el embrión de 28 mm de longitud que se

corresponde al estadio 23 de la Carnegie, por lo que coincidimos con lo afirmado por Humphrey (1969) y Esporrín Bosque (1990).

El mecanismo por el cual se cierra el paladar secundario ha sido atribuido en la literatura a explicaciones muy variadas, Fleischmann (1922) considera que los procesos palatinos horizontales surgen por neoformación tras la atrofia de los verticales. His (1901), Kick (1902), Nouye (1912) y Lucke (1976) afirman que es fundamental el descenso de la lengua. Coleman (1965), Green y Kuchhar (1973), Harris (1967), Kochr y Johnson (1965), Larson (1962) y Wacker y Fraser (1956) atribuyen al desplazamiento medial del mesénquima la remodelación de la zona rostral de la bóveda palatina. Walker y Quarles (1956,1973) consideran que fuerzas intrínsecas localizadas en las valvas producen la elevación de los procesos palatinos verticales a horizontales. Sicher (1924) Bollert y Hendrick (1971), Jalineck y Peterka (1977) atribuyen una gran importancia al crecimiento rostral de la mandíbula. Moore y Persaud (2004) atribuyen al ácido hialurónico de las células del mesénquima un papel importante en la elevación al producir hidratación del las mismas. Harris (1964-1967), Larson (1972) Long y cols. (1973) y Taylor (1973-1978) correlacionan los cambios en la angulación de la base del cráneo con la elevación de los procesos palatinos.

Humphrey (1968) demuestra movimientos reflejos orales en embriones de ocho semanas que Hamilton (1975) atribuye como

muy importantes para la elevación de los procesos palatinos. Para este autor, la tracción ejercida por los músculos extrínsecos de la lengua cuando la mandíbula desciende hace que el esbozo lingual descienda y deje libre el espacio para la elevación de los procesos palatinos. En su opinión, los tapones mucosos que cierran las narinas facilitan la creación de una presión negativa que ayuda en este proceso.

Para que existan movimientos de apertura y cierre se necesita una articulación temporomandibular que los posibilite. Mérida y colaboradores (1999 a) sistematizan el desarrollo de la articulación temporomandibular y afirman que en la séptima y octava semana sólo existe una condensación mesenquimal en el área de la futura articulación, ya que en su opinión en este periodo la articulación transcurre en la etapa blastemática. Con esta estructura serían imposibles los movimientos ya que no existe cavidad articular que lo permita. Tal y como demuestra Rodríguez Vázquez y colaboradores (1992) el cartílago de Meckel es, al final del periodo embrionario, una estructura continua situada dentro de la mandíbula en formación y extendida hasta la región del oído medio donde está en contacto con el yunque.

Mérida y colaboradores (1990) describen en embriones de 7-8 semanas las características de la articulación entre el cartílago de Meckel y el yunque. Entre ambos existe cavidad articular y la denominan “articulación mandibular primaria”, manifestando que en

ella pueden realizarse los movimientos de apertura y cierre mandibular. Esporrín Bosque (1990) concluye que la elevación de los procesos palatinos sucede en el estadio 23 de la Carnegie, siendo necesario el descenso de la mandíbula que relaciona con el desarrollo de la articulación entre el extremo posterior del cartílago de Meckel y el yunque. En su opinión el crecimiento rostral del cartílago de Meckel juega un papel muy importante ya que, al desplazar hacia abajo y ventralmente la raíz de la lengua, facilita la horizontalización de los procesos palatinos.

En nuestro material, el desarrollo de la musculatura intrínseca y extrínseca de la lengua y de los músculos masticadores es considerable durante los estadios 20 a 23 de la Carnegie. Coincidimos con Esporrín Bosque (1990) y Rodríguez Vázquez (1992) en las relaciones que estos músculos tienen con el cartílago de Meckel y, por tanto, consideramos que su acción se transmite al citado cartílago para posibilitar en el estadio 23 de la Carnegie el descenso mandibular para lo cual es imprescindible que se forme la cavidad articular en la articulación entre el extremo dorsal del cartílago de Meckel.

En opinión de Gómez de Ferraris y Campos (2002) la diferenciación y maduración neuromuscular en el área bucomaxilofacial es muy precoz ya que tiene relación con reflejos vitales como el de succión y el de deglución, reflejos que se desarrollan entre la 12 y la 32 semanas de vida intrauterina. Lucke

(1976) demuestra que la musculatura de la lengua posee suficiente grado de desarrollo para poder contraerse durante la fase de elevación de las valvas palatinas. Para nosotros, la formación del paladar secundario y, por tanto, de la mayor parte del palatum durum y palatum mole se debe a la elevación de los procesos palatinos verticales y su correspondiente horizontalización. No hemos observado signos de atrofia en los procesos palatinos verticales por lo que no coincidimos con lo manifestado por Fleischmann (1922). Tampoco hemos visto signos de remodelación en la zona rostral de la bóveda palatina por lo que estamos en desacuerdo con Coleman (1965), Green y Kuchhar (1973), Harris (1967), Kuchhar y Johnson (1965) y Walker y Fraser (1956).

Estamos de acuerdo con la opinión de His(1901), Kick (1902), Nove (1912), Lucke (1976) y Esporrín Bosque (1990) para quienes el descenso de la lengua es imprescindible para el cierre del paladar.

Coincidimos plenamente con Esporrín Bosque (1990) cuando afirma que para la elevación de los procesos palatinos es imprescindible el desarrollo de la articulación martillo-yunque y la formación de una cavidad articular, cavidad que Mérida y colaboradores (1990) localizaron en embriones de 7 y 8 semanas. Esta articulación, sobre la que actuarían los músculos masticadores a través del cartílago de Meckel, facilitaría el descenso mandibular y la creación de un espacio sobre el dorso lingual para que los

procesos palatinos se horizontalicen. Esta elevación sería facilitada por la acción de succión ejercida por la presión negativa que los tapones mucosos de las narinas crean en las fosas nasales, tal y como manifiesta Hamilton (1975).

Otro hecho muy importante en el cierre del paladar secundario lo constituye el crecimiento antero inferior del esbozo mandibular. Este crecimiento descrito por Diewert (1976), Jeliivek y Peterk (1977), Seegmiller y Frases (1977) en animales de experimentación y que Diewert (1985) localizada en embriones humanos de 7 a 10 semanas de gestación, nosotros lo observamos entre los estadios 20 a 23 de la Carnegie, opinión coincidente con los trabajos de Rodríguez Vázquez (1997 b) y Esporrín Bosque (1990).

En nuestra opinión al crecer hacia delante el cartílago de Meckel y descender la mandíbula por acción de la articulación Meckel-yunque, se crea el espacio necesario, tanto vertical como horizontalmente, para que puedan elevarse los procesos palatinos.

Otro hecho trascendente en el que coincidimos con Esporrín Bosque (1990) es en el desplazamiento anterior de la base de la lengua, conseguido al crecer hacia delante del esbozo mandibular, por lo que evitaría el obstáculo que en opinión de Green y Prat (1976) supondría la base de la lengua en la rotación de las valvas palatinas.

Por todo lo expuesto creemos que alteraciones en la constitución y desarrollo de la denominada por Mérida y colaboradores (1990) “articulación mandibular primaria” podrían ser causa de hendiduras del paladar secundario al no posibilitar las condiciones espaciales necesarias para la elevación de los procesos palatinos.

En la génesis de las hendiduras del paladar secundario creemos que juega un papel importantísimo el retraso en el crecimiento anterior del cartílago de Meckel. Esto condicionaría el retraso en el desplazamiento anterior de la lengua, especialmente de su base, y por tanto su interposición entre las valvas palatinas, creando un obstáculo para la elevación de estas.

El fallo en estos dos mecanismos pensamos que justificarían los signos asociados al síndrome de Pierre Robin, caracterizado por glosoptosis, micrognacia, y paladar hendido. Como también explicarían la frecuente asociación observada en síndromes malformativos como el síndrome de Treacher Collins, síndrome de Miller, síndrome de Nager, síndrome otopalatodigital tipo II, síndrome de Stickler, síndrome de Roberts, síndrome de Escobar, síndrome de la hipoplasia femoral y facies poco usual. En todos ellos existe asociada micrognacia y paladar hendido, lo que indica la estrecha relación existente entre la falta de desarrollo y crecimiento del esbozo mandibular y la formación de las hendiduras palatinas.

Es evidente que pueden existir otros factores que posibiliten las hendiduras palatinas. Pensamos que alteraciones en el crecimiento mesodérmico de los procesos palatinos verticales durante los estadios 16 a 23 de la Carnegie pueden condicionar procesos palatinos poco desarrollados que, a pesar de su elevación, no contacten en la línea media con el contralateral y ocasionen hendiduras del paladar secundario. Por tanto, el periodo de exposición a factores ambientales que puedan incidir en la proliferación mesodérmica hay que extenderlo, dentro del periodo embrionario, al que abarcan los estadios 16 a 23 de la Carnegie.

En opinión de O’Rahilly (1998) el retraso en el desarrollo de las valvas palatinas obedece a alteraciones en la vascularización, con vascularización deficiente y disolución incompleta de la aleta nasal.

Una vez horizontalizados los procesos palatinos se establece el contacto en la línea media entre sus epitelios, desarrollándose según demuestran Zeiler y colaboradores (1964) una fuerte adhesión, sin que existan desmosomas de unión entre ambos Farbman (1968).

La adhesión está relacionada con la existencia de un recubrimiento epitelial rico en hidratos de carbono (Pourtois 1966; Pourtois 1968 a; Pourtois 1968 b; Pourtois 1970) que Pratt y colaboradores (1973); Pratt y colaboradores (1975); Creene y colaboradores (1974) demuestra lo están aumentados en la superficie medial justo en la fase previa a la elevación.

Como consecuencia de la adhesión de la línea media de los epitelios de ambas valvas, se forma un cordón epitelial impar y medio, visible en embriones del estadio 23 de la Carnegie y en la primera semana del periodo fetal. Desde su formación, aparecen signos de fragmentación que sugieren el inicio de su desintegración.

En opinión de Mato y colaboradores (1966), Smiley (1970), Smiley y colaboradores (1971), Mathiessen y colaboradores (1972) se produce por procesos de muerte celular programada, que Sweeny y colaboradores (1970), Mato y colaboradores (1972), Mato y colaboradores (1966) y Hayward (1969) consideran se inician en fases previas.

Se ha descrito el efecto que determinadas sustancias producen sobre el proceso de muerte celular anteriormente descrito, impidiendo la fusión entre los procesos palatinos horizontales. Como inhibidores de muerte celular se han identificado la tiemlamina (Baird y colaboradores 1973) hadacidina (Fairbanks y colaboradores 1974), factor de crecimiento epitelial (Hassell y colaboradores 1974) y diazo oxo norleucina Pratt y colaboradores (1975).

En nuestra opinión alteraciones en la adhesión epitelial pueden condicionar la no formación del cordón epitelial y, por tanto, evitarían el cierre del paladar secundario, pese haberse producido la correcta elevación de las valvas palatinas plenamente

desarrolladas. Por este mecanismo se producirían hendiduras palatinas durante el estadio 23 de la Carnegie.

Otra posible causa de hendidura palatina que podría actuar desde el estadio 23 de la Carnegie y prolongarse durante la primera semana del periodo fetal, sería la inhibición en la desintegración del cordón epitelial inducido por sustancias que inhiben la muerte celular programada. Esto determinaría la no mezcla del material mesodérmico de los procesos palatinos horizontales y, por tanto, la no consolidación del paladar secundario.

Conclusiones

CONCLUSIONES.

1. El labio superior y paladar primario se forman durante el periodo embrionario entre los estadios 13 a 20 de la Carnegie.
2. En la formación del philtrum labial, proceso alveolar de incisivos y paladar primario participan los mamelones nasal interno y frontonasal.
3. La porción externa del labio se origina del mamelón maxilar, el citado mamelón surge en el estadio 16 de la Carnegie y crece intensamente en dirección medial.
4. En el estadio 16 de la Carnegie por contacto del epitelio entre el mamelón maxilar y nasal interno se origina un cordón epitelial que dorsalmente se adelgaza para formar la membrana buconasal.
5. A lo largo del estadio 18 de la Carnegie desaparece el cordón epitelial y la membrana buconasal. La pérdida del cordón facilita la fusión mesodérmica entre los mamelones maxilar y nasal interno y la desaparición de la membrana permite la permeabilidad de la coana primitiva.
6. En el estadio 18 de la Carnegie surgen los procesos palatinos del mamelón maxilar. Durante los estadios 19 a 22 se orientan

verticalmente y mantienen estrecha relación con la cara latero basal del esbozo lingual.

7. En el estadio 23 de la Carnegie los procesos palatinos se horizontalizan y contactan en la línea media y con el epitelio del paladar primario para terminar de cerrar el paladar duro y blando.
8. Confirmamos que los procesos palatinos se disponen horizontalmente por elevación, siendo decisivo el crecimiento anterior del esbozo mandibular y la formación de la cavidad en la articulación mandibular primaria entre Meckel-yunque.
9. Alteraciones durante los estadios 14 y 15 de la Carnegie en el crecimiento de la fosa olfativa, vesículas telencefálicas o incremento de presión ejercida por el relieve pericárdico conllevarían hendiduras labiales y/o palatinas medias.
10. Alteraciones producidas en el mamelón maxilar, por defecto de crecimiento mesodérmico medial en el estadio 16 de la Carnegie, originarían hendidura labial y/o hendiduras palatinas anteriores uni o bilaterales.
11. La no desaparición total del cordón epitelial entre los mamelones maxilar y nasal interno en el estadio 18 de la Carnegie producirían hendidura labial y/o hendiduras palatinas anteriores.

12. El retraso o disminución del crecimiento del cartílago de Meckel durante los estadios 20 a 23 de la Carnegie, junto a alteraciones en la formación de la articulación mandibular primaria en el estadio 23 de la Carnegie, podrán determinar la aparición de paladar hendido asociado a otras malformaciones como sucede entre otros en el síndrome de Pierre Robin.
13. Defectos mesodérmico durante los estadios 18 a 23 de la Carnegie en las valvas palatinas, determinarían alteraciones en la forma y tamaño de los procesos palatinos que impedirían su fusión. Estos defectos justificarían las hendiduras del paladar secundario no asociadas a síndromes complejos.
14. Alteraciones en la adhesión epitelial en los procesos palatinos durante el estadio 23 de la Carnegie ocasionan hendiduras del paladar secundario.
15. La no desaparición del cordón epitelial interpuesto entre los procesos palatinos horizontales en el estadio 23 de la Carnegie y primeras semanas del periodo fetal, puede originar hendiduras del paladar secundario.

Bibliografía

Bibliografía

1. American Cleft Palate Craniofacial Association (1993); Parameters for evaluation and treatment of patients with cleft lip/palate or other craniofacial anomalies; Cleft Palate J. Mar, 30(2) SUPP 1: 4-12
2. Andersen H., Mathiessen M.E. (1967) Histochemistry of the early development of the human central face and nasal cavity with special reference to the movements and fusion of palatine processes. Acta. Anat. 68, 473-508.
3. Baird G., Verrusio A.C. (1973). Inhibition of palatal fusion in vitro by 2-thienylalanine. Teratology 7, 37-48.
4. Balinsky B.I.(1983) Introducción a la embriología. 5ª Ed, Ediciones Omega.
5. Barbiarz B, Allenspach A.L., Zimmerman E.F. (1975) Ultrastructural evidence of contractile systems in mouse palates prior rotation. Devl. Biol. 47, 32-44.
6. Bashkar S.N. (1986) Histología y embriología bucal de Orban. 9ª Edición. Ed. El Ateneo. Buenos Aires.
7. Beaty-TH; Maestri-NE; Hetmanski-JB; Wyszynski-DF; Vanderkolk-CA; Simpson-JC; McIntosh-I; Smith-EA; Zeiger-JS; Raymond-GV; Panny-SR; Tiffet-CJ; Lewanda-AF; Cristion-CA; Wulfsberg-EA. (1997) Testing for interaction between maternal smoking and TGF α genotype among oral cleft cases born in Maryland 1992-1996. Cleft-Palate-Craniofac-J. Sep; 34(5): 447-54.
8. Bernheim N, Georges M, Malevez C, De Mey A, Mansbach A. (2006)-Embryology and epidemiology of cleft lip and palate. B-ENT, Acta otorhinolaryngologica Belgica, 2 Suppl 4:11-9
9. Bollert Hendrick (1971) Morphogenesis of the palate in the baboon (*papio cynocephalus*) Teratology, 4, 343-355.
10. Carpenter E. (1937). The head pattern in Amlyostoma studied by vital staining and transplantation methods. J. Exp. Zool. 75, 103:30-41.

11. Chaundry A.P. Sham R.M. (1973). Palatogenesis in hámster II. Ultrastructural observations on the closure of palate. J.Morph. 139, 329-350.
12. Coleman R.D. (1965). Development of rat palate. Anat. Rec. 151, 107-118.
13. Cooke J.(1988) The early embryo and the formation of body pattern. American Scientist 76:35.
14. Corliss CE. (1979). Embriología humana de Pattern Fundamentos del desarrollo clínico. El Ateneo, Buenos Aires.
15. Croen-LA; Shaw-GM; Sanbonmatsu-L; Selvin-S; Buffler-PA. (1997). Maternal residential proximity to hazardous waste sites and risk for selected congenital malformations. Epidemiology. Jul; 8(4): 347-54.
16. Davis, W.L.(1988) Histología y embriología bucal. 1ªEd. Editorial Intermédica Mc Graw-Hill. Méjico.
17. De Oliveira C; Maia Campos G.(1993) Alcohol induced alterations in palate epithelium of the rat fetus. Braz Dent J,; 4(1): 19-28
18. Diewert V. (1974) Experimental induction of premature movement of rat palatal shelves in vivo. J. Anat. 129, 597-601.
19. Diewert-VM.(1993) Growth and morphogenesis of the human embryonic midface during primary palate formation analyzed in frontal sections. J-Craniofac-Genet-Dev-Biol. Jul-Sep; 13(3): 162-83.
20. Dursy E. (1869). Zur Entwicklung chichte des kopfes des monschen und der höeren wirbeltiere. Tubigen. Verlag Lauppschen.
21. England MA.(1990)-The Unborn Patient. Prenatal Diagnosis and Treatment.“Cellular processes and tissue interactions in developmental pathology. 2nd edition. Philadelphia. Saunders.
22. Esporrín Bosque,J. (1990) Morfogénesis palatina embriones humanos de los estadios 11 a 23 de O’Rahilly. Tesis doctoral. UCM.
23. Fairbancks M.B., Kollar E.J. (1974) Inhibition of palatal fusion in vitro by hadacidin. Teratology 9, 169-178.

24. Farbman A.I. (1968) Electron microscopie study of palate fusion in mouse embryos. *Devl. Biol.* 18, 93-116.
25. Fleishmann (1922) Eine Erklärung der minderheit in sachen der gaumenbildung. *Zeitscher. F. Anat.* 66.
26. Gómez de Ferraris, ME; Campos Muñoz, A; (2002) *Histología y embriología bucodental*. 2ª Ed. Editorial médica Panamericana. Madrid.
27. Greene R.M., Kochhar D.M. (1974). Surface coa ton the epithelium of developing palatine shelves in the mouse as revealed by electron microscopy. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 31, 683-692.
28. Greene R.M., Kochhar D.M. (9173) Spatial relations in the oral cavity of cortisone treated mouse fetuses during the time of secondary palate closure. *Teratology* 8, 153-162.
29. Grosen D, Chevier C. A (2012). Cohort study of recurrence patterns among more than 54.000 relatives of oral cleft cases in Denmark: support for the multifactorial threshold model of inheritance. *L Med Genet.* March; 47(3):162.168.
30. Gui-T; Osumi-Yamashita-N; Eto-K.(1993) "Proliferation of nasal epithelial and mesenchymal cells during primary palate formation". *J-Craniofac-Genet-Dev-Biol.* Oct-Dec; 13(4): 250-8.
31. Guthrie S. (1991)- Horizontal and vertical pathways in neural induction. *Trends in Neurosciences* 14:123.
32. Haggis A.Y. (1956). Analisis of the determination of the olfactory placode in amblyostoma punctatum *J. Embryol. Exp. Morph.* 4, 120-138.
33. Hamilton W.J.; Mossman H.W. (1975). *Embriología humana* 4ª Edición. Editorial Inter-Médica. Buenos Aires.
34. Harris J.W.S. (1964) Oligohydramnios and cortisone induced Cleft palate. *Nature, Lond.* 203, 533-534.
35. Harris J.W.S. (1967) Experimental studies on closure and Cleft formation in the secondary palate. *Sci. Basis. Med. Ann. Rev.* 356-369.
36. Hassel J.R., King C.T.G., Cohen S. (1974). Inhibited epitelial cell death in cultured rat palatal shelves. *J. Dent. Res* 53,65.
37. Hayward F. (1969) Ultrastructural changes in the epithelium during fusion of the palatal processes in rats. *Arch. Oral. Biol.* 14, 661-673.

38. Hirinchen K. (1985). The Early Development of Morphology and Patterns of the Face in the Human Embryo". Advances in Anatomy. Embryology and Cell Biology 98.Hirinchen K.New York, Springer-Verlag.
39. His W. (1901) Beobachtungen zur geschichte der nasen und gaumen bildung beim menshlichem. Embryonen Abh Geb Naturw. 27, 349-389.
40. Hisaki E. (1969) Embryogenesis of the primary palate in the mouse. M.S. theses. University of Toronto.
41. Houdayer C, Bahau M, (1998) Orofacial cleft defects: inference from nature and nurture. Ann-Genet.; 41(2): 89-117
42. Humphrey T. (1971) Development of oral and facial motor mechanism in human fetuses and their relation to Craniofacial growth. J. Dent. Res. 50, 1428-1441.
43. Hwang-SJ; Beaty-TH; Panny-SR; Street-NA; Joseph-JM; Gordon-S; McIntosh-I; Francomano-CA.(1995) Association study of transforming growth factor alpha (TGF alpha) TaqI polymorphism and oral clefts: indication of gene-environment interaction in a population-based sample of infants with birth defects. Am-J-Epidemiol. Apr 1; 141(7): 629-36.
44. Inouye M. (1912) Die Entwicklung der sekundären gaumens eimiger Säugetierenit besondever. Berücksichtigung der bildungs vorgänge an Geisichte und des umlagerungsprozesses der gaumenplatten. Anat. Hefte. 46, 1-184.
45. Iwata J, Parada C, Chai Y. (2011). The mechanism of TGFβ signaling during palate development. Oral Dis, November; 17(8) 733-744.
46. Jelinek R, Peterka (1977) The role of the mandible in mouse palatal development revisited. Cleft Palate 14, 211-221.
47. Johansen AM, Wilcox A, Lie R, Andersen L, Drevon C.(2009). Maternal consumption of coffee and caffeine containing beverages and oral clefts: A population-based Case Control study in Norway. Am J Epidemiol. May 15, 169(10):1216-1222.
48. Johnston, MC. (1964). Facial malformation in chick embryos resulting from removal of neural crest. J. Dent. Res. 43, 822.

49. Johnston, MC. (1966). A radiographic study of the migration and fate of the cranial neural crest cells in the chick embryo. *Anat. Rec.* 156, 143-155.
50. Kenneth, M.D. (1990). Atlas de malformaciones congénitas. Editorial Interamericana. Mc Graw-Hill. 4ª Edición. México.
51. Kitamura H. (1966) Epithelial remnants pearls in the secondary palate in the human abortus: a contribution to the study of the mechanism of cleft palate formation. *Cleft Palate J.* 3, 240-257.
52. Koch W.E., Smiley G.R. (1973) An analysis of "fusion" during secondary palate formation. *Anat. Rec.* 175, 361
53. Kochhar D.M., Johnson E.M. (1965) Morphologic and autoradiographic studies of Cleft palate induced in rat embryos by maternal hypervitaminosis A. *J. Embryol. Exp. Morph.* 14, 223-238.
54. Kucherova F.N. (1945). Inductive influence of forebrain upon body epithelium. *C.R. Acad. Sci. U.R.S.* 47, 307:9-19
55. Landauer, W. (1954). On the chemical production of development abnormalities and phenocopies in chicken embryo. *J. Cell. Comp. Physiol.* 43, 261-306.
56. Larson K.S. (1961) Studies on the closure of the secondary palate III. Autoradiographic and histochemical studies in the normal mouse embryo. *Acta. Morph. Neerl-Scan.* 4, 349-367.
57. Larson K.S. (1972) Mechanisms of Cleft palate formation. En: *Congenital defects. New directions in research.* (Ed. D. Jenerich, R.G. Skalko and I.H. Porter), Pp. 255-273. New York and London: Academic Press.
58. Larson K.S., Bostrom H., Carlsoo S. (1959) Studies on the closure of the secondary palate I. Autoradiographic study in the normal mouse embryo. *Exp. Cell. Res.* 16, 379-383.
59. Larsson K.S. (1962) Studies on the closure of the secondary palate. IV. Autoradiographic and histochemical studies of mouse embryos from cortisone treated mothers. *Acta. Morph. Neerl-Scand.* 4, 369-386.
60. Lejour-Jeanty, M. (1966). Bees de liebre provoques chez le rat par un derivé de la penicilline, l'hadacina. *J. Embryol. Exp. Morph.* 15, 193-211.

61. Lejour-Jeanty,M. (1979). Cleft lip induced in the rat. Cleft palate J. 7,169-186.
62. Leslie EJ, Marzita ML. (2013). Genetics of cleft lip and cleft palate. Am J Genet Part C Semin Med Genet 163C: 246-258.
63. Lessard J.L., Wee E.L., Zimmerman D.F. (1974) Presence of contractile proteins in mouse fetal palate prior to shelf elevation. Teratology 9,113-126.
64. Long S.Y., Larsson K.S., Lohmander S. (1973). Cell proliferation in teh cranial base of A/J mice with 6-AN-induced Cleft palate. Teratology 8, 137-138.
65. López Pelayo E. (1982) Contribución al estudio del desarrollo del paladar. Tesis de licenciatura, Cádiz.
66. Luke D.A. (1976) Development of the secondary palate in man. Acta Anat. 94, 596-608.
67. MacIntyre DJ; Chang-HH; Kaufman-MH. (1995) Teratogenic effects of amniotic sac puncture: a mouse model. J-Anat. Jun; 186 (Pt 3): 527-39
68. Mathiessen M, Andersson H. (1972) Desintegration of the junctional epithelium of human fetal hard palate. Z.Anat. Entwgesch 137, 153-169.
69. Mato M, Smiley G.R., Dixon A.D. (1972) Epithelial changes in the presumptive regions of fusion during secondary palate formation. J. Dent. Res. 5, 1451-1456.
70. Mato N., Aikawa E.,Katahira M. (1966). Appearance of various types of lysosomes in the epithelium covering lateral palatine shelves during a secondary palate formation. Gunma J. Med. Sci. 15, 46-56.
71. Mc Donnel R, Owens M, Delany C, et al.(2013) Epidemiology of orofacial clefts in the east of oreland in the 25-year period 1984-2008. The Cleft Palate- Craniof J. Pendiente de publicación aceptado mayo 2013.
72. McManus JFA, Mowry RW (1968) Técnica Histológica. Madrid Atika S.A.
73. Mérida Velasco JR, Rodríguez Vázquez JF, Mérida Velasco JA, Sánchez Montesinos I, Espín Ferra J, Jiménez Collado J. (1999) Development of the human temporomandibular joint. Anat. Rec 255. 20-30

74. Mérida Velasco JR, Rodríguez Vázquez JF, Jiménez Collado J. (1990) Meckelian articular complex. Eur Arch Biol. 101: 447-453
75. Merrit, L. (2005) Part 1. Understanding the embryology and genetics of cleft lip and palate. Adv Neonatal Care. April,5 (2):64-71.
76. Mitchell LE. (1997). Genetic epidemiology of birth defects; nonsyndromic cleft lip and neural tube defects. Epidemiol Rev.; 19(1): 61-68.
77. Montenegro-MA; Palomino-H; Palomino-HM. (1995) The influence of earthquake-induced stress on human facial clefting and its simulation in mice. Arch-Oral-Biol. Jan; 40(1): 33-7.
78. Moore K, (2008). The developing human. Clinically oriented embryology, 8ª edición. Saunders, ed. Elsevier.
79. Moore, K; Persaud,T. (2004) Embriología Clínica. Editorial Elsevier. 7ª Edición.
80. Moore, K.L.(1976) Embriología clínica. 1ª Edición Edit. Impartécnica S.A. Madrid.
81. Moore, Persaud, Shiota.(1995) Atlas de embriología clínica. Ed Panamericana.
82. Munger, R. G., Romitti, P. A., Daack-Hirsch, S., Burns, T. L., Murray, J. C. and Hanson, J. (1996), Maternal alcohol use and risk of orofacial cleft birth defects. Teratology, 54: 27–33.
83. Nanci A en Ten Cate's, oral histology,(2012) 8th ed. Elsevier UK.
84. O'Rahilly R, Bossy J, Müller F. (1981) An introduction to staging of the human embryo. Bull. Ass Anat;65:141-236.
85. O'Rahilly R; Müller,F. (1998) Embriología y teratología humanas. Editorial Masson, S.A. Barcelona.
86. O'Rahilly, Gardner E (1965) the initial appearance of ossification in staged human embryos. Anat. Rec; 151:394
87. O'Rahilly R., Müller F. (2010). Developmental stages in human embryos: revised and new measurements. Cell Tissue Organs 192: 73-84.
88. Orts Llinares M. (1986) Aportación al estudio de la ontogenia y malformaciones del paladar en embriones y fetos humanos. Tesis doctoral. Alicante.

89. Orts Llorca F, Jiménez Collado J. (1969) Morfogénesis de la bóveda palatina. Sus malformaciones. Arch. Fac. Med. Madrid. Vol XV-nº3, 213-228.
90. Orts Llorca F. Murillo Ferrol N. (1961) Determination und differenzierung der riechplakoden beim hühnerembryo Roux. Archiv. Für Entwicklungsmechanik 153, 434-442.
91. Patten, B.M. (1976). Embriología Humana. 5ª Edición. Editorial El Ateneo, Buenos Aires.
92. Patten,B. (1962) Embriología Humana. Ed. El Ateneo. 4ª Ed.
93. Pavri S, Forrest CR. (2013) Demographics of orofacial clefts in Canada from 2002 to 2008. The Cleft Palate- Craniof J. 50(2) March. pp.224-230.
94. Pons Ortella E. (1934) Über die bildungsweise des sekundären gaumens. Anat. Anz. 84,13.
95. Pourtois M. (1966). Onset of acquired potentiality for fusion in the palatal shelves of rats. J.Embryol. exp. Morph. 16, 171-182.
96. Pourtois M. (1968a). Amniotic fluid and palatal fusion in the rat. Arch. Oral. Biol. 13, 87-92.
97. Pourtois M. (1968b) La fusion des crêtes palatines et son alternative pour quelques agents teratogènes. Archs. Biol. 79, 1-74.
98. Pourtois M. (1969) Study on the fusion of palatal precesses in vitro and in vivo. J. Dent. Res. 48, 11 35.
99. Pourtois M. (1970) The fate of rat palatal shelves cultivated in vitro in the presence of periodic acid. Arch Oral Biol 16:503-508.
100. Pourtois M. (1972). Morphogenesis of the primary and secondary palate. En: developmental aspects of oral biology. London Academic press. 81-88.
101. Pratt R.M., Goggins J.R.,Wilk A.L., King C.T.G. (1973). Acid mucopolysacharides synthesis in the secondary palate of the developing rat at the time of rotation and fussion. Devel Biol. 32, 230-237.
102. Pratt R.M., Green R.M. (1975) Inhibition of programmed epithelial cell death in the developing rat secondary palate by diazo-oxo-norleucine (DON). J. Cell Biol. 67, 344 a.

103. Pratt R.M., King C.T.G. (1971). Collagen synthesis in the secondary palate of the developing rat. Arch. Oral. Biol. 16, 1181-1185.
104. Prochazcova J, Vinsova J. (1995). Craniofacial morphology as a marker of predisposition to isolated cleft palate. J Craniofac Genet Dev Biol. Jul-Sep; 15 (3): 162-168.
105. Raunich L. (1950). Von Welchem Keimbezirk wird die Riechgrube der amphibien induziert? Experimentia. 6, 337-342.
106. Rodríguez Vázquez JF, Mérida Velasco JR, Mérida Velasco JA, Sánchez Montesinos I, Espin Ferra J, Jiménez Collado J, (1997). Development of Meckel's cartilage in the symphyseal region in a man. Anat. Rec; 249-254.
107. Rodríguez Vázquez JF, Mérida-Velasco JR, Verdugo López S, Sánchez Montesinos I, Mérida Velasco JA. (2006) Morphogenesis of the second pharyngeal arch cartilage (Reichert's cartilage) in human embryos. J. Anat. 208, pp 179-189.
108. Rodríguez Vázquez JF; Mérida Velasco JR; Jiménez Collado J, (1992). Development of the human sphenomandibular ligament Anat. Rec. 233:453-460.
109. Rohen, J. (2007). Embriología funcional: Una perspectiva desde la biología al desarrollo. 3ª Ed. Buenos Aires, Madrid: Médica Panamericana.
110. Romitti-PA; Burns-TL; Murray-JC, (1997). Maternal interview reports of family history of birth defects: evaluation from a population-based case-control study of orofacial clefts. Am-J-Med-Genet. Nov 12; 72(4): 422-429.
111. Ross R.B., Johnston M.C. (1972) Cleft lip with or without cleft palate: embriogenesis, epidemiology and etiology. En: Cleft lip and palate. Baltimore: Williams and Williams Co., 17-46.
112. Sadler. (1986) Langman. Embriología médica. 5ª ed. Panamericana.
113. Sadler.(2008). Langman Embriología médica: con orientación clínica- 10ª Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana.
114. Singh GD, Johnston J, Lozanoff S.(1998) "Cleft palate formation in fetal Br mice with midfacial retrusion: tenascin,

- fibronectin, laminin, and type IV collagen immunolocalization". Cleft Palate-Craniofacial Journal. Jan. 35(1): 65-76.
115. Singh Kohli S, Singh Kohli V, (2012). A comprehensive review of the genetics basis of cleft lip and palate. J Oral Maxillofac Pathol. Jan-Apr; 16(1): 64-72
 116. Smiley G.R. (1970) Fine structure of mouse embryonal palatal epithelium prior to and after midline fusion. Arch. Biol. 15, 287-296.
 117. Smiley G.R. Hart J.C., Dixon A.D. (1971). Growth of the Craniofacial complex during formation of the secondary palate. J. Dent. Res. 50, 1506-1507.
 118. Smiley G.R., Koch W.E. (1971). Fine structure of mouse secondary palate development in vitro. J.Dent. Res. 59, 1671-1677.
 119. Spemann H. (1912). Zur Entwicklung des wirbeltieranges. Zool. 32, 1-98.
 120. Streit A. (2000). Initiation of neural induction by FGF signalling before gastrulation. Nature 406, 74-78 6 july.
 121. Taylor R.G. (1978) Craniofacial growth during closure of the secondary palate in the hamster. J.Anat. 125, 361-370.
 122. Taylor R.G., Harris J.W.S. (1973). Growth and spatial relationships of the cranial base and lower jaw during closure of the secondary palate in the hamster. J.Anat. 115, 149-150.
 123. Tondury (1961); G. Tondury; On the mechanism of cleft formation. S. Pruzansky (Ed.), Congenital Anomalies of the Face and Associated Structures, Thomas, Springfield, Illinois, pp. 85–101
 124. Trasler D.G. (1968). Pathogenesis of the Cleft lip and its relation to embryonic face shape in A/Jax and C57BL mice. Teratology. 1, 33-50.
 125. Treserra Llauroadó.(1977)- Tratamiento del labio leporino y fisura palatina. Barcelona. Ed. Jims.
 126. Tuchmann-Duplessis, H., Haegel, P. (1982). Embriología cuadernos prácticos. Cuaderno 2º Organogénesis 2ª edición. Editorial Toray-Masson, S.A. Barcelona.

127. Tyler M.S., Koch W.S. (1975). In Vitro development of palatal tissues from embryonic mice. I. Differentiation of the secondary palate from 12 day mouse embryos. *Anat Rec.*
128. Veau V. (1942). Hasenscharten bei hundekeimlingen von 11-14 mm SSL. *Z. Anat. Entwickl. lungsgesch.* 11,433
129. Verrusio A.C. (1970) A Mechanism for closure of the secondary palate. *Teratology* 3, 17-20.
130. Vieira AR (2006) Association between the transforming growth factor Alpha gene and nonsyndromic oral clefts: A Huge Review. *Am. J. Epidemiol.* 163 (9): 790-810.
131. Waddington G.H.; Cohen A. (1936). Experiments of the development of the head of the chick embryo. *H. Exp. Biol.* 13, 219-225.
132. Walker B.E. (1961) The Association of mucopolysaccharides with morphogenesis of the palate and other structures in mouse embryos. *J. Embryol.exp.Morph.* 9, 22-31.
133. Walker B.E., Fraser F.C. (1956) Closure of the secondary palate three strains of mice. *J. Embryol. Exp. Morph.* 4, 176-189.
134. Walker B.E., Quarles J, (1973). Palate closure in embryonic mice after excising the tongue. *Teratology*, 7, A-30.
135. Waterman R.E., Meller S.M. (1974) Alterations in the epithelial surface of human palatal shelves prior to and during fusion: A scanning electron microscopic study. *Anat. Rec.* 180, 111-136.
136. Wenli Y, Serrano M, (2009) Cleft lip and palate genetics and application in early embryological development. *Indian J Plast Surg* October, 42 (suppl): S35-S50.
137. Wilk A., Steffek A.J., King C.T.G. (1970) Norchlorcyclizine analogs: relationship of teratogenic activity to in vitro cartilage binding. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 171, 118-126.
138. William R (1993) Contemporary Orthodontics. 2nd edition. Mosby Year Book.
139. Yokoh Y. (1967) Development of the palate in man. *Acta Anat.* 68, 1-8.
140. Zeiler K.B., Weinstein S., Gibson R.D. (1964) A study of the morphology and the time of closure of the palate in the albino rat. *Arch. Oral. Biol.* 9, 545-554.

141. Ziwwling E. (1940) An experimental analysis of the anuran olfactory organ. J. Exp. Zool. 84,291-323.
142. Zuccherro T et al.(2004) Interferon Rregulatory Factor & (IRF6) Gene variants and the risk of isolated cleft lip or palate. N Engl J Med; 351:769-780.

SUMMARY.

Summary.

Craniofacial malformations constitute an important group of the congenital malformations in newborns. The prevalence reaches 1 in every 700 live births according to Bernheim's study in 2006. Cleft lip and cleft palate are the most frequent craniofacial malformations and their presence produces important aesthetic, phonatory, respiratory and masticatory alterations which, throughout history, has lead to various health specialists to intensify their efforts in order to advance the understanding of the development of these malformations.

The cleft may be complete or incomplete, uni or bilateral, affecting only the lip, palate or both. It may appear isolated or may form part of a syndrome. The etiology of this malformation has many factors, and although an unpredictable genetic base exists, there also exists a series of environmental factors that may alter the embriologic process of normal development of the lip, primary palate and secondary palate.

This malformation is produced in the embryonic period from the fourth to the eighth week of intrauterine life, a period which occurs between the O'Rahilly's Carnegie stages 10 to 23.

The upper lip, the primary palate and the secondary palate begin their formation in the same manner as other structures from

the three embryonic germ layers, the form begins to develop over time and in the eighth week of intrauterine life the human features can be recognized. It is a period of growth in volume and of development of the structure and function which is obtained thanks to the mitotic cell division, morphogenesis and cellular differentiation. A series of movements of groups of cells cause complex cellular interaction in sequence organized during the formation of tissues and organs, simultaneously with the physiological development, formation of the tissues and grouping to the organs in order that they can function in their specific roles. This process is lead and controlled by a series of mechanisms. tissue interaction, regulated migration of the cell colonies, controlled cellular proliferation and programmed cell death.

The factors which initiate a particular change are specified as symptoms and create the possibility of an initiating tissue, a tissue which responds within it's ability and a factor of competence which begins the process. The initial sign may be a diffusable molecule in the short term, paracrine interaction, juxtacrine signaling, that is, by interacting with ligands secreted to the extracellular matrix or by direct contact between cells. The modifications of this intercellular dialogue can be a consequence of congenital alterations, including labial and palate fissures.

During Carnegie's stages 6 to 9 a separation of the nervous system and the cells of the neural crest is produced, the separation

of the mesoderm and the folded embryo. The cells of the neural crest are important due to the fact that they possess a great migratory capacity and the separation within the developing embryo, developing into multiple structures, including the cartilage of the pharyngeal arch. Thanks to the folding of the embryo the buccopharyngeal membrane is created which separates the stomodeum from the foregut. After the fourth week the buccopharyngeal membranes begin to appear, bands with a nucleus of mesenchyme tissue covered with ectoderm externally and with endoderm internally. Each pharyngeal arch possesses a cartilage component derived from the ectomesenchyme (mesenchyme derived from the cells of the neural crest), a muscular component which has its own nerve and arterial component.

From the first arch the maxillary processes are formed, in the dorsal area of the first arch and sides of the stomodeum and the mandibular processes, under the stomodeum; they are joined by a formation in rapid expansion and cranial to the stomodeum, the frontal prominence. These five structures surround the undeveloped mouth. By the 28th day, the sides of the frontal prominence form a thickening of the superficial ectoderm which forms the olfactory placodes, from which is derived the nose and nasal cavity. A misalignment of the placode can determine an anomaly in the distribution of the mesenchyme and cause the appearance of the labial cleft associated or not to the cleft palate. The rapid proliferation of the mesenchyme under the placode causes it to form

in the shape of a horseshoe, describing now the external part as a external nasal process and the internal as an internal nasal process in the middle the placode remains in a depression and forms the nasal cavity which deepens in the mesenchyme and which leads to several theories. In the sixth and seventh weeks of the embryonic development, the maxillary processes grow more similar to the internal nasal processes and external nasal processes but they remain separated by grooves. This growth in the maxillary processes moves towards medial line, the internal nasal processes which are finally united and once joined from the upper lip, and also continue to grow and fuse giving place to the inter maxillary segment where they form the philtrum, the upper front maxilla and the primary palate.

In the sixth week, the secondary palate is formed, a process which begins with two vertical sheets derived from the maxillary processes which later become horizontal and fused in the middle. There are different theories regarding which are the forces which originate these processes.

The objectives of this thesis are to describe the chronology of the formation of the lips, primary palate and secondary palate, to determine with human embryos the possible mechanisms of the formation of labial cleft and cleft palates and learn how the development of other craniofacial structures can influence the appearance of these malformations.

In order to proceed we have studied the evolution of the development of the upper lip, primary palate and secondary palate in 16 human embryos and two human fetuses of the collection Jiménez Collado of the Anatomy Department of the "Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid". All observations are described throughout this thesis.

We arrived at the following conclusions. The upper lip and the primary palate are formed between stages 13 and 20 of Carnegie. The formation of the philtrum, the alveolar process of incisors and primary palate take part the interior nasal mamelon and the frontonasal mamelon. The external part of the lip originates from the maxilla mamelon. In stage 18 of Carnegie the palatal process of the maxillae mamelon appears, which in stages 19 to 22 is vertical with a close relationship with the side of the tongue. In stage 23 they become horizontal and fuse closing the hard palate and soft palate. Alterations in stages 14 and 15 of Carnegie which affect the growth of the nasal cavity, the pressure created by the pericardial cavity or the changes in the growth of the telencephalic vesicles could give way to a cleft lip and/or palate. Alterations in stage 16 of Carnegie which affect the maxillary mamelon through defect of the intermediate mesoderm would create a cleft lip and/or palate. In stage 18 of Carnegie, the non-disappearance of the epithelium cord between the internal nasal mamelon and the maxillary will produce cleft lip and/or palate. A delay in the growth of Meckel's cartilage in

stages 20 to 23 of Carnegie will determine the appearance of cleft palate in the secondary palate not associated with other syndromes. Changes in the adhesion of the epithelium in stage 23 cause a cleft of the secondary palate, in the same way that the non-disappearance of the epithelium cord intervened in both palate processes.